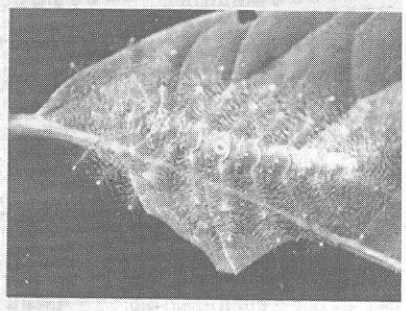
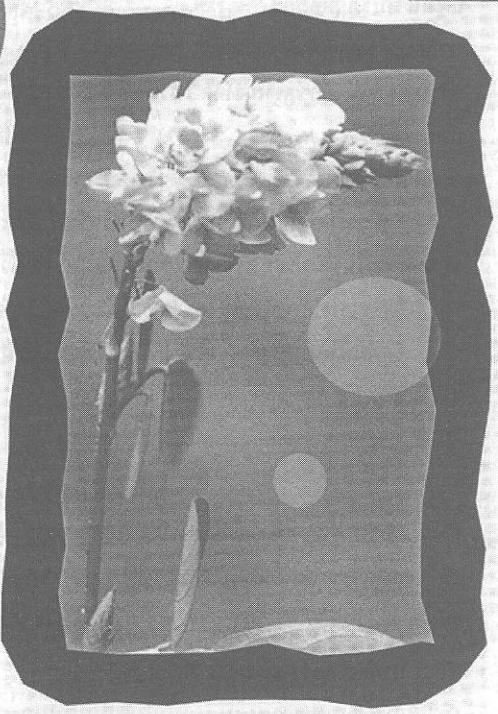
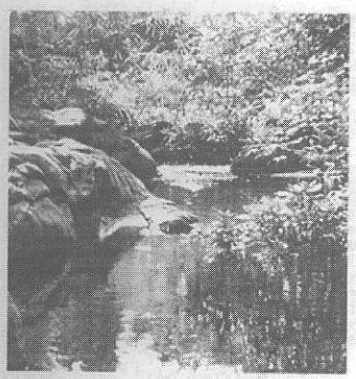
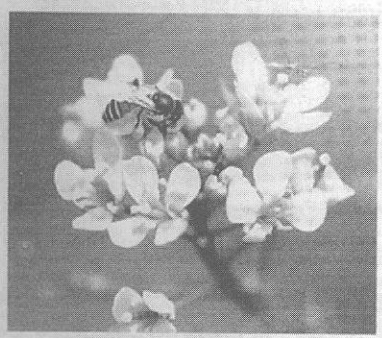
# รายงานการวิจัย ในโครงการ BRT ๒๕๔๔









## BRT RESEARCH REPORTS 2001

**โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย**


สนับสนุนโดย

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ศช.)

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

# รายงานการวิจัยในโครงการ BRT ปี ๒๕๔๔

# BRT RESEARCH REPORTS 2001


จัดพิมพ์โดย: โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT)
ชั้น 15 อาคารมหานครยิปซั่ม 539/2 ถนนศรีอยุธยา เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ 0 2642 5322 ถึง 31 ต่อ 255-262, 280 โทรสาร 0 2642 5163
http://brt.biotec.or.th

บรรณาธิการ: วิสุทธิ์ ใบไม้ และรังสิมา คุ้มหอม

กองบรรณาธิการ: ณัฐกานต์ จินตพยุงกุล, จตุพร ศรีสว่าง, อำไพ ฉะอุ่ม, ฤดี รอดรุ่งเรือง, กมลวรรณ เอี่ยมกุล, แสงดาว ปิยศทิพย์, สังวรณ์ กิจทวี และ John Milne

ออกแบบปกโดย: ณัฐลิน พันธุ์ภักดีดิสกุล

จัดรูปเล่มโดย: นงลักษณ์ ชมภูวิเศษ

พิมพ์ที่: บริษัทจิรวัฒน์ เอ็กซ์เพรส จำกัด โทรศัพท์ 0 2539 6596 โทรสาร 0 2931 0828
กันยายน 2544

สำหรับการอ้างอิง: ●(หนังสือ-บรรณาธิการ): วิสุทธิ์ ใบไม้ และรังสิมา คุ้มหอม (บรรณาธิการ) 2544. รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2544. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. บริษัทจิรวัฒน์ เอ็กซ์เพรส จำกัด กรุงเทพฯ. 385 หน้า.
●(บทความในหนังสือ): ละออศรี เสนาะเมือง. 2544. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนสัตว์น้ำจืดในประเทศไทย. ใน: รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2544, วิสุทธิ์ ใบไม้ และรังสิมา คุ้มหอม (บรรณาธิการ). หน้า 1-16. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. บริษัทจิรวัฒน์ เอ็กซ์เพรส จำกัด กรุงเทพฯ.

ISBN: 974-8054-82-9

Published by: Biodiversity Research and Training Program (BRT)
15th Floor Gypsum Metropolitan Tower, 539/2 Sri-Ayudhya Road, Rajdhevee, Bangkok 10400
Tel: 0 2642 5322-31 Ext. 255-262, 280 Fax: 0 2642 5163

Editors: Visut Baimai and Rungsima Kumhom

Editorial Board: Nuttagarn Jintapayungkul, Jatuporn Srisawang, Umpai Cha-um, Rudee Rodrungruang, Kamolwan Aiemkul, Sangdoa Piyottip, Sangvorn Kitthawee and John Milne

Covers Designed by: Nuttalin Panpakdeediskul

Layout Designed by: Nongluck Chomphuvises

Printed by: Jirawat Express Co.,Ltd. Tel: 0 2539 6596 Fax: 0 2931 0828
September 2001

For Citation: ●(Book-edited): Baimai, V. and R. Kumhom (eds.) 2001. BRT Research Reports 2001. Biodiversity Research and Training Program. Jirawat Express Co.,Ltd., Bangkok. pp. 385.
●(Paper-edited): Sanoamuang, L. 2001. Diversity of Freshwater Zooplankton in Thailand. *In* BRT Research Reports 2001, V. Baimai and R. Kumhom (eds.). pp. 1-16. Biodiversity Research and Training Program. Jirawat Express Co.,Ltd., Bangkok.

# สารบัญ


คำนำ ix

**ความหลากหลายของแพลงก์ตอนสัตว์น้ำจืดในประเทศไทย** ..... **1-16**
*ละออศรี เสนาะเมือง*

**ความหลากหลายทางชีวภาพของไดอะตอมพื้นท้องน้ำและสาหร่ายขนาดใหญ่ในลำน้ำแม่สาอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่** ..... **17-23**
*ยุวดี พีรพรพิศาล, สมร คลื่นสุวรรณ, ฉมาภรณ์ นิวาศะบุตร, กนกพร กวีวัฒน์, สาคร พรหมขัตติแก้ว, ตรัย เป็กทอง, ประเสริฐ ไวยะกา และทัศพร คุณประดิษฐ์*

**การสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ** ..... **24-33**
*อาภารัตน์ มหาขันธ์, มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์, วัชรี กัลยาลัง และวัลลภา อรุณไพโรจน์*

**A Review of Invertebrate Pathogenic Clavicipitaceae of Thailand** ..... **34-41**
*Nigel Hywel Jones*

**Pteridophytes Flora of Khun Korn Waterfall Forest Park, Chiang Rai Province** ..... **42-54**
*Thaweesakdi Boonkerd and Piyapong Ratchata*

**การศึกษาอนุกรมวิธานของพรรณไม้บางวงศ์ในประเทศไทย** ..... **55-62**
*ประนอม จันทรโณทัย, จรัล ลีรติวงศ์, ประภาพร ทับทิมทอง, ภาสกร บุญชาลี, มณฑล นอแสงศรี, วิไลวรรณ มนูศิลป์, สุทธิรา ขุมกระโทก, สุรพล แสนสุข และอมรรัตน์ ประจักษ์สูตร์*

**พรรณพืชวงศ์ขิงของไทย** ..... **63-77**
พวงเพ็ญ ศิริรักษ์

**Systematic Study of the Family Euphorbiaceae in Thailand** ..... **78-88**
*Kongkanda Chayamarit, Thawatchai Santisuk, Kai Larsen, Peter van Welzen, Hans J. Esser, Weerachai Nanakorn, Pranom Chantharanothai, Teerawat Boonthavikoon, Rachan Pooma, Leena Phuphathanaphong, Chirayupin Chantharaprasong and Supee Larsen*

**Palynological Study of Euphorbiaceae in Thailand** ..... **89-98**
*Kosum Pyramarn, Chumpol Khunwasi, Kanda Kasetsinsombat and Ratapong Puangtaptim*

**Cytogenetic Study Of Euphorbiaceae In Thailand** ..... **99-106**
*Puangpaka Soontornchainacksaeng, Taya Jenjittikul, Chadaporn Senakun and Winai Thongpubal*

**การศึกษาแมลงน้ำในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย** ..... **107-117**
*นฤมล แสงประดับ, ชุติมา หาญจวณิช, สุพัตรา ปานรงค์, ประสาท เนืองเฉลิม, วิไลลักษณ์ ไชยปะ, อลงกรณ์ ผาผง, บุญเสฐียร บุญสูง และศิริพร แซ่เฮง*

ประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่และวิธีเก็บตัวอย่างที่เหมาะสมบริเวณตอนล่าง..... 118-128
ของทะเลสาบสงขลาตอนใน ภาคใต้ของประเทศไทย
*เสาวภา อังสุภานิช, อำนาจ ศิริเพชร และมงคลรัตน์ เจริญพรทิพย์*

ฟอแรมมินิเฟอร่าน้ำกร่อยในยุคปัจจุบันจากภาคใต้ของประเทศไทย..... 129-136
*จรรยา จำนงค์ไทย และนารี โชติกวณิชย์*

การศึกษาชนิด ชีววิทยาและการแพร่กระจายของไรสี่ขาในภาคกลาง..... 137-151
และภาคตะวันออกของประเทศไทย
*อังศุมาลย์ จันทราปัตย์*

ความหลากหลายของหนอนพยาธิในลำน้ำแม่สา..... 152-157
อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่
*ชโลบล วงศ์สวัสดิ์, อำนาจ โรจนไพบูลย์, ธนู มะระยงค์, สบชัย สุวัฒนคุปต์,*
*จิราพร โรจน์ทินกร, พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์, อดิเทพพรชัย ภาชนะวรรณ, กานดา ค้ำชู,*
*อรรถพร นิชพันธ์, นิพนธ์ หมาดอาหิน และประลองยุทธ ศรีปาลวิทย์*

ความหลากหลายทางชีวภาพของหอยทากจิ๋วในประเทศไทย..... 158-169
*สมศักดิ์ ปัญหา, ปิโยรส ทองเกิด, จิรศักดิ์ สุจริต, ศักดิ์บวร ตุ้มปี่สุวรรณ, Diarmaid O'Foighil,*
*John B. Burch, รุจิพร ประทีปะเสน, รองลาภ สุขมาสรวง และสุรกฤษ ผลโคกสูง*

ความหลากหลายของแมลงกินได้และการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของจิ้งหรีดหางสั้น (จิโปม)..... 170-183
สกุล ***Brachytrupes*** ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย
*ยุพา หาญบุญทรง และอาจินต์ รัตนพันธุ์*

ความหลากหลายและวิวัฒนาการของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กในประเทศไทย..... 184-195
*เยาวลักษณ์ ชัยมณี*

ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการทางนิเวศวิทยา..... 196-209
ต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน
*นันทกร บุญเกิด, หนึ่ง เตียอำรุง, สมพร ชุณเหลือชานนท์,*
*เศรษฐา ศิริพินท์, สมศักดิ์ โคตรพงศ์ และอัจฉรา นันทกิจ*

**Testing Framework Tree Species for Restoring Biodiversity**..... 210-217
**on Degraded Forestland in Northern Thailand**
*Stephen Elliott, Puttipong Navakitbumrung, Cherdsak Kuarak,*
*Sudarat Zangkum, David Blakesley and Vilaiwan Anusarnsunthorn*

**Study of Forest Biodiversity at Mo Singto Forest Dynamics Plot,**..... 218-224
**Khao Yai National Park**
*Warren Y. Brockelman, Anuttra Natalang, Panarat Charoenchai, Chen Nan,*
*Thawatchai Santisuk, Chumphon Suckaseam, George Gale and James F. Maxwell*

**Effects of Human Landuse on Faunal Abundance in Some Thai Forest Reserves** ..... **225-234**
*Antony J. Lynam, Alan Rabinowitz and Warren Y. Brockelman*

**การท่องเที่ยวเชิงนิเวศ** ..... **235-248**
*ยศ สันตสมบัติ*

**การสำรวจกล้วยไม้ป่าและวิจัยเพื่อพัฒนาการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ในเขต อ.เมือง และ อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน** ..... **249-258**
*จิตราพรรณ พิลึก, ปราโมทย์ ไตรบุญ, ชูเกียรติ เทพสาร และดิเรก ตนพยอม*

**การประเมินค่าทางเศรษฐศาสตร์ของป่าไม้: กรณีศึกษามูลค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ (Non-Use Value) ของป่าไม้สักในอุทยานแห่งชาติแม่ยม จากการสร้างเขื่อนแก่งเสือเต้น** ..... **259-270**
*สุชาวัลย์ เสถียรไทย และเรณู สุขารมณ์*

**พันธุศาสตร์ของพืชสกุลถั่วแปบช้างในประเทศไทย** ..... **271-285**
*ปรีชา ประเทพา*

**ความหลากหลายและพันธุศาสตร์เชิงประชากรของสปีชีส์ของริ้นดำในประเทศไทย** ..... **286-311**
*เฉลียว กุวังคะดิลก, ชัยณรงค์ บุญเข็มทอง และสุวรรณี พยุหเสนา*

**ความหลากหลายของจีโนไทป์ของผึ้งโพรงในประเทศไทย ซึ่งแสดงโดยพอลิมอร์ฟิซึมของดีเอ็นเอ** ..... **312-325**
*ศิริพร สิทธิประณีต, นภา ศิวรังสรรค์, กนกทิพย์ ภักดีบำรุง และสิริวัฒน์ วงษ์ศิริ*

**การศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาสกุล *Clarias* และ *Prophagorus* ในประเทศไทย โดยใช้เทคนิค Protein Electrophoresis และ RAPD-PCR** ..... **326-350**
*อุทัยรัตน์ ณ นคร*

**การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์บางชนิดในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน** ..... **351-359**
*อำพา เหลืองภิรมย์, สุมนทิพย์ บุนนาค, อรอนงค์ กฤชเพชรรัตน์ และชวลิต กฤชเพชรรัตน์*

**การศึกษาคาริโอไทป์ของสิ่งมีชีวิต** ..... **360-378**
*วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล, เพลินพิศ โชคชัยชำนาญกิจ, ละเอียด คงกุ่ง, พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์, ผุสดี ปริยานนท์ และมงคล เกษประเสริฐ*

**สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชไทย** ..... **379-385**
*ยอดหทัย เทพธรานนท์, ยุวพิน เลิศวีระวัฒน์, อมลยา จตุรภัทร, พนิดา พงศ์ภาณุมาพร, รัชนีพร เจนวิถีสุข, ศรีสุดา ตระกูลน่าเลื่อมใส, อัมพร หรั่งรอด, Masahiko Isaka, ประสาท กิตตะคุปต์, ปัทมา พิทยขจรวุฒิ, ชะวะนี ศิริชัยวัฒน์, รัชดา จันทร์เพ็ญ, จักรพงศ์ อินทรอุดม, สุทธิชัย อินทมาตย์ และวาระดี วงศ์สวัสดิ์*

# Contents

**Foreword** ix

**Diversity of Freshwater Zooplankton in Thailand** ..... 1-16
*La-orsri Sanoamuang*

**Biodiversity of Benthic Diatoms and Macroalgae in Mae Sa Stream,** ..... 17-23
**Doi Suthep-Pui National Park, Chiang Mai**
*Yuwadee Peerapornpisal, Samorn Kluensuwan, Shamaporn Niwasabutra, Kanokporn Kaweewat, Sakorn Promkutkaew, Trai Pekthong, Prasert Waiyaka and Tatporn Kunpradid*

**Survey and Collection of Microalgal Strains From Natural Sources** ..... 24-33
*Aparat Mahakhant, Mayuree Tungtananuwat, Watcharee Kunyalung and Valapha Arunpairojana*

**A Review of Invertebrate Pathogenic Clavicipitaceae of Thailand** ..... 34-41
*Nigel Hywel Jones*

**Pteridophytes Flora of Khun Korn Waterfall Forest Park, Chiang Rai Province** ..... 42-54
*Thaweesakdi Boonkerd and Piyapong Ratchata*

**Taxonomic Studies on Some Plant Families in Thailand** ..... 55-62
*Pranom Chantaranothai, Jarun Leerativong, Prapaporn Tubtimtong, Pasakorn Boochalee, Monton Norsangsri, Wilaiwan Manusilp, Suthira Koomgratok, Surapol Sansouk and Amornrat Prajaksood*

**Zingiberaceae of Thailand** ..... 63-77
*Puangpen Sirirugsa*

**Systematic Study of the Family Euphorbiaceae in Thailand** ..... 78-88
*Kongkanda Chayamarit, Thawatchai Santisuk, Kai Larsen, Peter van Welzen, Hans J. Esser, Weerachai Nanakorn, Pranom Chantharanothai, Teerawat Boonthavikoon, Rachan Pooma, Leena Phuphathanaphong, Chirayupin Chantharaprasong and Supee Larsen*

**Palynological Study of Euphorbiaceae in Thailand** ..... 89-98
*Kosum Pyramarn, Chumpol Khunwasi, Kanda Kasetsinsombat and Ratapong Puangtaptim*

**Cytogenetic Studies of Euphorbiaceae in Thailand** ..... 99-106
*Puangpaka Soontornchainacksaeng, Taya Jenjittikul, Chadaporn Senakun and Winai Thongpubal*

**Studies on Aquatic Insects in Northeastern Thailand** ..... 107-117
*Narumon Sangpradub, Chutima Hanjavanit, Supratra Panrong, Prasart Nungchalerm, Wilailak Chaiyapa, Alongkorn Papong, Boonsatien Boonsoong and Siriporn Sae-Heng*

**Macrobenthic Fauna Community and Optimum Sampling Protocol** ..... 118-128
**for the Lower Part of Inner Songkhla Lake, Southern Thailand**
*Saowapa Angsupanich, Amnaj Siripech and Mongkolratana Charoenpornthip*

**Recent Brackish Foraminifera from Southern Peninsular Thailand**..... 129-136
*Junya Jumnongthai and Naree Chotikavanitch*

**Study on Species Diversity, Biology and Distribution of**..... 137-151
**Eriophyoid Mites in the Central and Eastern Parts of Thailand**
*Angsumarn Chandrapatya*

**Diversity of Helminths in Maesa Stream,**..... 152-157
**Doi Suthep-Pui National Park Chiang Mai Province**
*Chalobol Wongsawad, Amnat Rojanapaibul, Tanu Marayong,*
*Sopchai Suwattanacoupt, Jiraporn Rojtinnakorn, Pheravut Wongsawad,*
*Adithepproncha Pachananwan,Kanda Komcho, Auttaporn Nichapun,*
*Nipon Mhad-arehin and Pralongyut Sripalwit*

**Terrestrial Microsnails Biodiversity in Thailand**..... 158-169
*Somsak Panha, Piyoros Tongkerd, Chirasak Sutcharit,*
*Sakbovon Tumpeesuwan, John B. Burch, Rujiporn Pateepasen,*
*Ronglarp Sukmasruang and Surakrit Pholkoksung*

**Edible Insect Diversity and Cytogenetic Study of Short–taied Crickets**..... 170-183
**in the Genus *Brachytrupes* in Northeastern Thailand**
*Yupa Hanboonsong and Ajin Rattanapan*

**Diversity and Evolution of Small Mammals in Thailand**..... 184-195
*Yaowalak Chaimanee*

**Effect of Different Ecosystem Processes on**..... 196-209
**Populations of Nitrogen Fixing Bacteria**
*Nantakorn Boonkerd, Neung Teaumroong, Somporn Chunleuchanon,*
*Setha Siripin, Somsak Koteponge and Achara Nuntagit*

**Testing Framework Tree Species for Restoring Biodiversity on**..... 210-217
**Degraded Forestland in Northern Thailand**
*Stephen Elliott, Puttipong Navakitbumrung, Cherdsak Kuarak,*
*Sudarat Zangkum, David Blakesley and Vilaiwan Anusarnsunthorn*

**Study of Forest Biodiversity at Mo Singto Forest Dynamics Plot,**..... 218-224
**Khao Yai National Park**
*Warren Y. Brockelman, Anuttra Natalang, Panarat Charoenchai, Chen Nan,*
*Thawatchai Santisuk, Chumphon Suckaseam, George Gale and James F. Maxwell*

**Effects of Human Landuse on Faunal Abundance in Some Thai Forest Reserves**..... 225-234
*Antony J. Lynam, Alan Rabinowitz and Warren Y. Brockelman*

**Ecotourism**..... 235-248
*Yos Santasombat*

**Investigation of Wild Orchids and Research for Development of Ecotourism**..... 249-258
**in Muang and Pangmapa District, Maehongson Province**
*Chitrapan Piluek, Pramote Triboun,*
*Chukiat Tapsan and Derake Tonpayom*

**An Economic Valuation of Mae Yom National Park:..... 259-270**
**The Case Study of Kaeng Sua Ten Water Resources Development**
*Suthawan Sathirathai and Renu Sukharomana*

**Genetic Studies of the Genus *Afgekia* Craib (Leguminosae) in Thailand..... 271-285**
*Preecha Prathepha*

**Diversity and Population Genetics of *Simulium* Species in Thailand..... 286-311**
*Chaliow Kuvangkadilok, Chainarong Boonkemthong*
*and Suwannee Phayuhasena*

**Genotypic Diversity of *Apis cerana* in Thailand Revealed by DNA Polymorphism..... 312-325**
*Siriporn Sittipraneed, Napa Siwarungson,*
*Kanoktip Packdibamrung and Siriwat Wongsiri*

**Genetic Differentiation of Fishes in the Genera, *Clarias* and *Prophaqorus*,..... 326-350**
**in Thailand, Using Protein Electrophoresis and RAPD-PCR**
*Uthairat Na-Nakorn*

**Cytogenetic studies of Some Animals in Phu-Phan National Park..... 351-359**
*Ampa Luangpirom, Sumonthip Boonnak,*
*On-anong Kritpetcharat and Chavalit Kritpetcharat*

**Karyotypic Study of Living Organisms..... 360-378**
*Warawut Chulalaksananukul, Ploenpis Chockchaichomnankit,*
*Laead Kongkung, Pornarong Siripiyasing,*
*Putsatee Pariyanonth and Mongkol Gateprasert*

**Chemical Compositions and Bioactive Compounds from Thai Plants..... 379-385**
*Yodhathai Thebtaranonth, yuwapin Lerdveerawattana,*
*Amonlaya Jaturapat, Panida Pongphanumaporn,*
*Ratsamee Mathonglang, Srisuda Trakulnaleamsai,*
*Amporn Rungrod, Masahido Isaka, Prasat Kittakoop,*
*Pattama Pittayakhajonwut, Chawanee Sirichaiwat,*
*Rachada Chanphen, Chakapong Intaraudom,*
*Sutichai Intamas, Varadee Vongsavat*

## รายนามและที่ติดต่อของผู้เขียนเฉพาะชื่อแรก

| ชื่อ-นามสกุล | โทรศัพท์ | โทรสาร | E-mail |
|---|---|---|---|
| จรรยา จำนงค์ไทย | 0 2202-3747 | 0 2202-3754 | - |
| จิตราพรรณ พิลึก | 0 2579-0308 ต่อ 116 | 0 2579-1951 | - |
| เฉลียว กุวังคะดิลก | 0 2201-5274 | 0 2247-0079 | scckv@mucc.mahidol.ac.th |
| ชโลบล วงศ์สวัสดิ์ | 0 5394-3346 | 0 5389-2259 | scboi003@chiangmai.ac.th |
| นฤมล แสงประดับ | 0 4334-2908 ต่อ 224 | 0 4336-4169 | Narumon@kku1.kku.ac.th |
| นันทกร บุญเกิด | 0 4422-4751 | 0 4422-4750 | nantakon@ccs.sut.ac.th |
| ประนอม จันทรโณทัย | 0 4334-2908 ต่อ 123 | 0 4336-4169 | pranom@kku1.kku.ac.th |
| ปรีชา ประเทพา | 0 4372-1728 | 0 4372-1728 | preecha.p@techno.msu.ac.th |
| พวงเพ็ญ ศิริรักษ์ | 0 7444-6926 | 0 7421-2917 | spuangpe@ratree.psu.ac.th |
| ยศ สันตสมบัติ | 0 5394-3570 | 0 5389-2209 | soiysnts@cmu.chiangmai.ac.th |
| ยอดหทัย เทพธรานนท์ | 0 2201-5135 | 0 2247-7050 | scytr@mahidol.ac.th |
| ยุพา หาญบุญทรง | 0 4323-6108 | 0 4324-4474 | yupa_han@kku1.kku.ac.th |
| ยุวดี พีรพรพิศาล | 0 5394-3346 | 0 5389-2259 | scboi017@chiangmai.ac.th |
| เยาลักษณ์ ชัยมณี | 0 2202-3747 | 0 2202-3754 | yaocmn@mozart.inet.co.th |
| ละออศรี เสนาะเมือง | 0 4324-6534 | 0 4336-4169 | la_orsri@mail.kku.ac.th |
| วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล | 0 2218-5482 | 0 2252-8979 | cwarawut@pioneer.netserv.chula.ac.th |
| ศิริพร สิทธิประณีต | 0 2218-5434 | 0 2218-5436 | ssiripor@netserv.chula.ac.th |
| สมศักดิ์ ปัญหา | 0 2218-5273 | 0 2253-0337 | somsakp@sc.chula.ac.th |
| สุธาวัลย์ เสถียรไทย | 0 2941-0785-6 | 0 2941-0787 | suthawan@loxinfo.co.th |
| เสาวภา อังสุภานิช | 0 7421-1030-9 ต่อ 2320 | 0 7421-2823 | asaowapa@ratree.psu.ac.th |
| อังศุมาลย์ จันทราปัตย์ | 0 2579-1027 | 0 2561-4882 | agramc@nontri.ku.ac.th |
| อาภารัตน์ มหาขันธ์ | 0 2579-5515 ต่อ 2303 | 0 2561-4771 | mircen@tistr.or.th |
| อำพา เหลืองภิรมย์ | 0 4334-2908 | 0 4336-4169 | amplua@kku1.kku.ac.th |
| อุทัยรัตน์ ณ นคร | 0 2579-2924 | 0 2561-3984 | ffisurn@nontri.ku.ac.th |
| Antony J. Lynam | 0-2503-4478 | 0-2503-447 | lynam@citrus ucr.edu,tlynam@wcs.org |
| Kongkanda Chayamarit | 0 2561-4292-3 ต่อ 463 | 0 2561-4824 | kchayama@mozart.inet.ac.th |
| Kosum Pyramarn | 0 2218-5488 | 0 2252-8979 | pkosum@chula.ac.th |
| Nigel Hywel-Jones | 0 26448150-4 ต่อ 463 | 0 2644-8107 | nigelhj@biotec.or.th |
| Puangpaka Soontornchainacksaeng | 0 2248-5963 | 0 2248-5963 | scpsi@mahidol.ac.th |
| Stephen Elliott | 0 5394-3346 | 0 5389-2259 | scopplrn@chiangmai.ac.th |
| Thaweesakdi Boonkerd | 0 2218-5504 | 0 2252-8979 | bthawees@chula.ac.th |
| Warren Y. Brockelman | 0 24419003-7 ต่อ1407 | 0 2441-1013 | scwbk@mahidol.ac.th |

โครงการ BRT ก้าวไกล
สนับสนุนงานวิจัย แหล่งองค์ความรู้ใหม่
เผยแพร่ภูมิปัญญาไทย
ใส่ใจปัญหาสิ่งแวดล้อม
BRT
The Thai Response to Biodiversity

# คำนำ

ความหลากหลายทางชีวภาพที่ปรากฏอยู่ในโลกปัจจุบัน เป็นผลพวงที่เกิดจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตที่มีมานานประมาณ 3,800 ล้านปี พวกจุลินทรีย์ พืชและสัตว์ รวมทั้งมนุษย์ได้วิวัฒนาการร่วม (coevolution) กันมาอย่างเป็นระบบที่เชื่อมโยงกันและผูกพัน โดยมีปฏิสัมพันธ์อย่างเป็นพลวัต (dynamics) ในระบบนิเวศที่หลากหลายรูปแบบ และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ถิ่นอาศัย มนุษย์ซึ่งเป็นเพียงส่วนน้อยนิดของสรรพชีวิตที่มีอยู่มากมายมหาศาล โดยเฉพาะในบริเวณเขตร้อนนั้น ได้พึ่งพาอาศัยพืช สัตว์และจุลินทรีย์ที่หลากหลายชนิดเป็นฐานทรัพยากรชีวภาพ เพื่อการดำรงชีวิตอย่างสันติสุขตลอดเวลากว่า 2 แสนปีที่ผ่านมา และสรรพชีวิตเหล่านี้จะเป็นทรัพยากรชีวภาพที่ทรงคุณค่าต่อการพัฒนา และการอยู่รอดของมนุษยชาติต่อไปอีกนาน แต่การสูญเสียสิ่งมีชีวิตบางชนิดไปอย่างรวดเร็วและรุนแรงจากการทำลายถิ่นอาศัยและป่าไม้เขตร้อน ที่ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศและสถานภาพความหลากหลายทางชีวภาพในทางลบอย่างต่อเนื่องในช่วง 50 กว่าปีที่ผ่านมานั้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมในท้องถิ่นในภูมิภาคและในบรรยากาศของโลกด้วย ซึ่งส่งผลกระทบต่อสภาพความเป็นอยู่ของมนุษย์ที่จะต้องเผชิญกับปัญหาการขาดแคลนอาหาร ที่อยู่อาศัย และโรคภัยไข้เจ็บอย่างมากมายในปัจจุบัน และจะทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้นในอนาคต ถ้าหากบรรยากาศโลกยังคงแปรเปลี่ยนไปในทิศทางที่น่าห่วงใยเช่นนี้ เราจะปล่อยให้ทรัพยากรชีวภาพที่หลากหลายสูญหายไปอย่างต่อเนื่องเช่นนั้นหรือ? นี่คือสิ่งที่ทุกคน ทุกชุมชน และทุกสังคม ทั้งภายในประเทศและระหว่างประเทศ ต้องใส่ใจและช่วยกันอนุรักษ์ทรัพยากรชีวภาพอันทรงคุณค่าต่อนิเวศวิทยา และต่อการอยู่รอดของมนุษย์ให้คงอยู่คู่โลกนี้ต่อไป ดังนั้น การศึกษาวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพจึงมีความจำเป็น เพื่อให้เกิดความรู้ความเข้าใจในธรรมชาติของสรรพสิ่งมีชีวิต ซึ่งจะเป็นรากฐานสำคัญในการอนุรักษ์ การบริหารจัดการ และการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรชีวภาพอย่างมีประสิทธิภาพและประสิทธิผลทั้งในระยะสั้นและในระยะยาว

ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมาโครงการ BRT ได้ให้การสนับสนุนการศึกษาวิจัยและฝึกอบรมด้านความหลากหลายทางชีวภาพอย่างกว้างขวางและต่อเนื่อง โครงการวิจัยหลายโครงการที่เสร็จสิ้นสมบูรณ์แล้ว มีผลงานขั้นพื้นฐานที่มีคุณค่าและมีประโยชน์สำหรับการพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพและการอนุรักษ์ ผลงานวิจัยในโครงการเป็นพื้นฐานสำคัญในการทำโจทย์วิจัยในด้านเจาะลึกสำหรับนักศึกษา คณาจารย์ และนักวิจัยในอนาคต โครงการ BRT จึงได้นำสรุปผลงานการวิจัยที่เสร็จสมบูรณ์แล้วจำนวน 32 โครงการมารวบรวมไว้ในเล่มเดียวกัน เพื่อเป็นสื่อกลางประชาสัมพันธ์ให้กับนักอนุรักษ์และนักวิชาการทุกด้านที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางชีวภาพ เพื่อให้เกิดการเชื่อมโยงและประสานงานวิจัยต่อไปได้ง่ายขึ้น

โครงการ BRT หวังว่าหนังสือรวมเล่มสรุปผลงานโครงการวิจัยที่นำเสนอในที่นี้ จะมีคุณค่าต่อการพัฒนาการวิจัยการอนุรักษ์ และการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย ในนามของโครงการ BRT กระผมใคร่ขอขอบคุณนักวิจัยทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการเขียนบทสรุปผลงานวิจัยในส่วนที่ท่านรับผิดชอบ จนได้เอกสารทางวิชาการที่มีเนื้อหาและสาระอันทรงคุณค่าต่อประชาคมวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพ

วิสุทธิ์ ใบไม้

กันยายน 2544

# ความหลากหลายของแพลงก์ตอนสัตว์น้ำจืดในประเทศไทย

**ละออศรี เสนาะเมือง**

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง ขอนแก่น 40002

**Abstract: Diversity of Freshwater Zooplankton in Thailand**

Studies on the diversity of freshwater zooplankton in Thailand were reviewed, particularly those that were supported by the BRT program. The objectives were to study species composition, distribution, duration of occurrence, and ecological variables affecting the distributions of the following groups: rotifers, cladocerans, copepods and anostracans. In order to conserve and manage aquatic resources, it is necessary to gather baseline data on zooplankton for constructing keys to identification of Thai zooplankton and to prepare a good reference collection. To date, 26 new species of zooplankton (13 rotifers, 1 cladoceran, 9 copepods and 3 anostracans) have been described from Thai specimens. Several new records for Thailand were added to the Thai checklist. The total numbers of species currently recorded are 327 for rotifers, 78 for cladocerans, 45 for copepods, and 3 for anostracans, and their species lists are presented here. Among these, 18 species are regarded as endemic to Thailand. They comprise 7 rotifers, 1 cladoceran, 7 copepods and 3 anostracans. The majority of recorded species of rotifers and cladocerans are circumtropical species. However, many species of copepods and anostracans are more restricted in their distributions. According to their distributions, affinities between the zooplankton communities of Southeast Asia, South Asia and tropical Australia are documented. A relationship between species composition and temperatures or pH is not clearly detected, whereas it is related to salinity and conductivity of the water.

**Key words:** Rotifers, Cladocera, Copepods

## บทนำ

แพลงก์ตอนสัตว์ที่พบในแหล่งน้ำจืดของประเทศไทยประกอบด้วยสัตว์ขนาดเล็กจำนวน 5 กลุ่ม ได้แก่ โปรโตซัว (protozoa), โรติเฟอร์ (rotifers), คลาโดเซอรา (Cladocera), โคพีพอด (copepods), และ ออสทราคอด (ostracods) (ละออศรี, 2530) สำหรับในแหล่งน้ำชั่วคราว (temporary waters) ที่มีน้ำขังเฉพาะช่วงฤดูฝนมักพบสัตว์ขนาดเล็กเพิ่มอีก 2 กลุ่ม ได้แก่ ไรน้ำกาบหอย (clam shrimps) และไรน้ำนางฟ้า (fairy shrimps) (ละออศรี และคณะ, 2543) แพลงก์ตอนสัตว์บางชนิดสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพน้ำได้ (Pejler, 1983) เช่น โรติเฟอร์บางชนิดที่พบในน้ำเน่าเสีย ได้แก่ *Keratella tecta* (Gosse), *Brachionus calyciflorus* Pallas, *Filinia longiseta* (Ehrenberg) โดยมักใช้ควบคู่กับปริมาณที่พบด้วย แหล่งน้ำที่มีธาตุอาหารละลายอยู่มาก (eutrophic waters) มักมีแพลงก์ตอนสัตว์อาศัยอยู่หนาแน่นมากกว่า 1,000 ตัวต่อลิตร ส่วนแหล่งน้ำที่มีธาตุอาหารน้อย (oligotrophic waters) มักมีแพลงก์ตอนสัตว์อาศัยอยู่ประมาณ 200-500 ตัวต่อลิตร (Ruttner-Kolisko, 1974) ในปัจจุบันนิยมเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์เป็นการค้าหลายชนิด เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น โรติเฟอร์ (*Brachionus plicatilis* Muller) มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศไทย (ธิดา, 2530) และต่างประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น และอิสราเอล (Hirayama, 1987) ไรแดง *(Moina micrura* Kurz) ซึ่งเป็นคลาโดเซอราชนิดหนึ่ง เพาะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับลูกปลาน้ำจืด เมื่อไม่นานมานี้มีความพยายามที่จะเลี้ยงไรน้ำนางฟ้าเพื่อทดแทนไรน้ำเค็ม (อาร์ทีเมีย) ซึ่งหากประสบผลสำเร็จจะสามารถลดการนำเข้าไข่อาร์ทีเมียได้ปีละหลายล้านบาท (ละออศรี, 2541ข)

ในอดีตงานวิจัยที่ตีพิมพ์เกี่ยวกับความหลากหลายของแพลงก์ตอนสัตว์น้ำจืดในประเทศไทยมีค่อนข้างน้อย เนื่องจากขาดเอกสารอ้างอิงหรือคีย์ (keys) ที่เหมาะสมในการจำแนกชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์ในเขตร้อน ขาดความชำนาญในการจำแนกชนิด ซึ่งข้อมูลพื้นฐานของแพลงก์ตอนสัตว์เป็นข้อมูลที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการจัดการและอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ ดังนั้นจึงควรรวบรวมผลงานวิจัยด้านแพลงก์ตอนสัตว์น้ำจืดที่ศึกษาไว้แล้วในประเทศไทย เพื่อให้ทราบสถานภาพขององค์ความรู้ที่มีในปัจจุบัน และเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาด้านความหลากหลายทางชีวภาพของแพลงก์ตอนสัตว์สำหรับประเทศไทยในอนาคต สำหรับผลงานวิจัยนี้ ผู้เรียบเรียงได้รวบรวมผลงานวิจัยแพลงก์ตอนสัตว์ที่สำรวจพบใน

ประเทศไทย โดยเฉพาะงานวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการ BRT ที่ทำการศึกษาสัตว์ 4 กลุ่ม ได้แก่ โรติเฟอร์, คลาโดเซอรา, โคพีพอด และไรน้ำนางฟ้า เนื่องจากเป็นกลุ่มที่มีความหลากหลายมากในแง่จำนวนชนิดและแพร่กระจายอยู่ทั่วไปตามแหล่งน้ำจืดต่างๆ ทั่วประเทศไทย

***โรติเฟอร์*** เป็นสัตว์หลายเซลล์ขนาดเล็กที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพวกหนอนตัวกลม (nematodes) นักสัตววิทยาจัดโรติเฟอร์ไว้ในไฟลัมโรติเฟรา (Phylum Rotifera) ซึ่งจัดอยู่ในซูเปอร์ไฟลัมแอสเซลมินทีส (Superphylum Aschelminthes) โดยทั่วไปโรติเฟอร์มีความยาวประมาณ 40 ไมครอน ถึง 2.5 มิลลิเมตร แต่ส่วนใหญ่มักอยู่ระหว่าง 50-100 ไมครอน (Clement and Wurdak, 1991) นักอนุกรมวิธานแพลงก์ตอนสัตว์ได้ตั้งชื่อโรติเฟอร์ที่พบทั่วโลกไว้แล้วกว่า 2,000 สปีชีส์ (Wallace and Snell, 1991) ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในน้ำจืด มีเพียงประมาณ 5% ที่อาศัยอยู่ในน้ำกร่อยและน้ำทะเล (Pennak, 1989) การศึกษาเกี่ยวกับความหลากชนิดของโรติเฟอร์แพร่หลายในต่างประเทศโดยเฉพาะในทวีปยุโรป มีรายงานเกี่ยวกับจำนวนสปีชีส์ของโรติเฟอร์ที่พบแล้วในทวีปต่าง ๆ ดังนี้ ยุโรป 1,350 สปีชีส์ (Berzins, 1978), อาฟริกา 510 สปีชีส์ (De Ridder, 1987), ออสเตรเลีย 620 สปีชีส์ (Koste and Shiel, 1987), แอนตาร์กติก 64 สปีชีส์ (Jose de Paggi and Koste, 1984) และอเมริกาเหนืออย่างน้อย 400 สปีชีส์ (Chengalath and Koste, 1983) สำหรับข้อมูลในเอเชียยังมีน้อย ในอินเดียพบประมาณ 300 สปีชีส์ (Segers et al., 1994), ฟิลิปปินส์ 61 สปีชีส์ (Mamaril and Fernando, 1978) ในปีค.ศ. 1966 ประเทศไทยเริ่มขึ้นโดยพบโรติเฟอร์เพียงสปีชีส์เดียว (Ueno, 1966) De Ridder (1970) พบในภาคกลางและเหนือจำนวน 29 สปีชีส์ หลังจากนั้น Koste (1975) ได้สำรวจหาที่เกาะอยู่ตามรากผักตบชวาในบึงบอระเพ็ด และได้ตั้งชื่อสปีชีส์ใหม่ (new species) 1 สปีชีส์คือ *Lecane junki* Koste ต่อมา Boonsom (1984) รวบรวมรายชื่อโรติเฟอร์ที่เคยสำรวจพบในประเทศไทยจำนวน 80 สปีชีส์

***คลาโดเซอรา*** เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่จัดอยู่ในไฟลัมอาร์โทรโปดา (Arthropoda) ซับไฟลัมครัสเตเซีย (Subphylum Crustacea) มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพวกกุ้ง และปู แต่มีขนาดเล็กกว่า ความยาวประมาณ 0.2-18.0 มิลลิเมตร มีรายงานว่าคลาโดเซอราที่พบแล้วทั่วโลกมีประมาณ 600 สปีชีส์ (Korovchinsky, 1996) ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืดเช่นเดียวกับโรติเฟอร์ มีการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ มีงานวิจัยที่รายงานเกี่ยวกับจำนวนชนิดของคลาโดเซอราในประเทศต่าง ๆ ดังนี้ รัสเซีย 177 สปีชีส์ (Manuilova, 1964), อังกฤษ 92 สปีชีส์ (Scourfield and Harding, 1966), เยอรมันนี 107 สปีชีส์ (Flossner, 1972), อิตาลี 109 สปีชีส์ (Margaritora, 1985), สาธารณรัฐประชาชนจีน 111 สปีชีส์ (Chiang and Du, 1978), ออสเตรเลีย 125 สปีชีส์ (Smirnov and Timms, 1983), สหรัฐอเมริกา 138 สปีชีส์ (Pennak, 1989) และมาเลเซีย 62 สปีชีส์ (Idris, 1983) สำหรับในประเทศไทยการศึกษายังมีน้อย Boonsom (1984) รวบรวมรายชื่อคลาโดเซอราที่พบในแหล่งน้ำต่าง ๆ จำนวน 48 สปีชีส์ (แต่มีเพียง 30 สปีชีส์ที่มีการจำแนกชนิดถูกต้อง)

***โคพีพอด*** เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่จัดอยู่ในไฟลัมอาร์โทรโปดา ซับไฟลัมครัสเตเซียเช่นเดียวกับคลาโดเซอรา แต่พบแพร่หลายเป็นปริมาณมากทั้งในน้ำจืดและน้ำทะเล โดยทั่วไปมีความยาว ตั้งแต่ 0.5-2.0 มิลลิเมตร มีบางชนิดเท่านั้นที่ยาว 3-5 มิลลิเมตร (Williamson, 1991) ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบโคพีพอดจำนวน 21 สปีชีส์ เป็นกลุ่มคาลานอยด์ (Calanoid) 14 สปีชีส์ และกลุ่มไซโคลพอยด์ (Cyclopoid) 7 สปีชีส์ (Lai and Fernando, 1981; Boonsom, 1984) สำหรับประเทศมาเลเซีย และสิงคโปร์ มีรายงานว่าพบโคพีพอดรวม 31 สปีชีส์ เป็นกลุ่มคาลานอยด์ 11 สปีชีส์ และไซโคลพอยด์ 20 สปีชีส์ (Lai and Fernando, 1978; Lim and Fernando, 1985)

***ไรน้ำนางฟ้า*** เป็นสัตว์น้ำจืดขนาดเล็กจัดอยู่ในไฟลัมอาร์โทรโปดา ซับไฟลัมครัสเตเซีย (Class Branchiopoda, Order Anostraca) อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืดที่มีน้ำขังชั่วคราว ชาวบ้านเรียกว่า *"แมงอ่อนช้อย แมงแงว แมงน้ำฝน หรือ แมงหางแดง"* มีวงจรชีวิตที่เป็นลักษณะเฉพาะ สามารถปรับตัวเพื่อให้อาศัยในแหล่งน้ำตื้นที่มีน้ำขังเฉพาะในช่วงฤดูฝน ในช่วงฤดูแล้งก่อนที่น้ำจะแห้งไรน้ำนางฟ้าเพศเมียจะผลิตไข่ที่มีเปลือกหนา (cysts หรือ resting eggs) จำนวนมาก เมื่อน้ำแห้งไข่ซึ่งถูกทยอยปล่อยลงสู่พื้นจะอยู่ในระยะพักตัว เมื่อฝนตกลงมาใหม่ในปีถัดไป ไข่เหล่านี้จะฟักเป็นตัวอ่อนและเจริญเป็นตัวเต็มวัยต่อไปได้ (ละออศรี, 2541ก) แหล่งอาศัยของไรน้ำนางฟ้า ได้แก่ บ่อขนาดเล็กตามทุ่งนา บ่อหรือคลองข้างถนนที่น้ำไม่ลึก ในธรรมชาติสามารถพบไรน้ำนางฟ้าได้ในช่วงระหว่างเดือนเมษายน ถึงสิงหาคมของทุกปี อาหารของไรน้ำนางฟ้า ได้แก่ สาหร่ายขนาดเล็ก แบคทีเรีย โปรโตซัว และโรติเฟอร์ มักพบไรน้ำนางฟ้าอาศัยอยู่กับลูกอ๊อด และตัว

อ่อนของแมลงน้ำชนิดต่างๆ ไรน้ำนางฟ้าคล้ายกับกุ้งขนาดเล็ก แต่ไม่มีเปลือก ลำตัวมีความยาว 1.3-3.0 เซนติเมตร มีขาว่ายน้ำจำนวน 11 คู่ (กุ้งมีขาเพียง 5 คู่) ว่ายน้ำหงายท้องโดยใช้ขาช่วยกรรเชียงน้ำ บริเวณหัวมีตาที่มีก้านยาว 1 คู่ มีหนวด 2 คู่ หนวดคู่ที่ 2 ของตัวผู้ยืดยาวกว่าของตัวเมีย เนื่องจากเปลี่ยนแปลงไปเพื่อใช้เกาะกับตัวเมียเวลาผสมพันธุ์ ส่วนปลายหางแยกออกเป็นสองแฉกมีสีแดงเข้ม ตัวเมียมีถุงไข่อยู่ทางด้านท้อง 1 ถุง (ละออศรี และคณะ, 2543) เป็นสัตว์ที่ค่อนข้างหายากในบริเวณเขตร้อนชื้น เพราะปลาจำนวนมากในเขตนี้ชอบกินไรน้ำนางฟ้าเป็นอาหาร ส่วนใหญ่จึงมักพบในน้ำจืดบริเวณเขตอบอุ่นของทวีปอเมริกาเหนือ ยุโรป อาฟริกา และเอเชีย ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบว่ามีไรน้ำนางฟ้าที่ตั้งชื่อแล้วเพียง 2 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ (1) *Streptocephalus dichotomus* Baird, 1860 พบในประเทศพม่า (Belk and Esparza, 1995) และ (2) *Streptocephalus javanensis* Brehm 1955 พบในประเทศอินโดนีเซีย (Vaas, 1952) นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกพบไรน้ำนางฟ้าแล้วจำนวน 23 สกุล 273 ชนิด (Belk and Brtek, 1995) ชนิดที่รู้จักกันแพร่หลาย คือ ไรน้ำเค็มหรืออาร์ทีเมีย (brine shrimp) อาศัยอยู่ในน้ำเค็ม เป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และรู้จักกันดีในวงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ การศึกษาเกี่ยวกับอนุกรมวิธานและนิเวศวิทยาของไรน้ำนางฟ้าในประเทศไทยมีน้อยมาก มีรายงานของมะลิ และคณะ (2530) และสำรวย (2532) พบไรน้ำนางฟ้า 3 ชนิด ในเขตจังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือและจังหวัดกาญจนบุรี แต่ไม่มีการจำแนกชนิดทางอนุกรมวิธาน

ผลงานนี้เป็นการเรียบเรียงงานวิจัยด้านแพลงก์ตอนสัตว์น้ำจืดที่ศึกษาในประเทศไทย โดยเน้นงานของคณาจารย์และนักศึกษาที่ได้รับทุนจากโครงการ BRT งานวิจัยเหล่านี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิด การแพร่กระจาย ฤดูกาลที่พบ และปัจจัยทางนิเวศวิทยาที่มีผลต่อการแพร่กระจายของแพลงก์ตอนสัตว์ 4 กลุ่ม ได้แก่ โรติเฟอร์, คลาโดเซอรา, โคพีพอด, และไรน้ำนางฟ้า

## วิธีการ

### *การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์*

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์จากแหล่งน้ำต่าง ๆ ในประเทศไทย ปีละ 2-3 ครั้ง ตามความเหมาะสม โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอน (plankton net) ที่มีขนาดตา 60 ไมครอน จากนั้นนำมาดองด้วยฟอร์มาลิน 5% และตรวจวัดปัจจัยทางนิเวศวิทยาของแหล่งน้ำ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH), อุณหภูมิ (temperature), ความเค็ม (salinity), ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity), ความขุ่น (turbidity) และค่าออกซิเจนละลาย (dissolved oxygen)

### *การวิเคราะห์ตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ในห้องปฏิบัติการ*

นำตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์มาวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพ (qualitative) โดยการจำแนกชนิด วาดรูป และถ่ายรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงติดอุปกรณ์สำหรับถ่ายภาพและวาดรูป (camera lucida) การวิเคราะห์ตัวอย่างบางชนิดจำเป็นต้องถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเตรียมตัวอย่างสำหรับกล้องอิเล็กตรอน ซึ่งใช้วิธีการของ Sanoamuang and McKenzie (1993) และ Sanoamuang and Stout (1993) สำหรับเอกสารอ้างอิงที่ใช้ประกอบการจำแนกสปีชีส์ของแพลงก์ตอนสัตว์มีดังต่อไปนี้

**1. โรติเฟอร์** ได้แก่ Koste (1978); Koste and Shiel (1987, 1989a, 1989b, 1990a, 1990b, 1991); Nogrady (1993); Sanoamuang (1993, 2001d); Segers (1995a); Shiel (1995); Shiel and Koste (1992, 1993) และ Shiel and Sanoamuang (1993)

**2. คลาโดเซอรา** ได้แก่ Dodson and Frey (1991); Idris (1983); Korovchinsky (1992, 1993); Shiel (1995) และ Smirnov (1992)

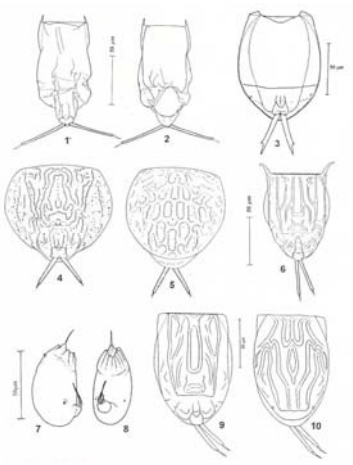
**3. โคพีพอด** ได้แก่ Dumont and Reddy (1993, 1994); Maas (1993); Reddy (1994); Reddy et al. (2000), Shiel (1995) และ Williamson (1991)

**4. ไรน้ำนางฟ้า** ได้แก่ Belk and Esparza (1995); Brendonck (1995); Brendonck and Belk (1997); Brendonck et al. (1992); Geddes (1981); Maeda-Martinez et al. (1995a, 1995b)

## ผลการวิจัย

### *แพลงก์ตอนสัตว์ชนิดใหม่ของโลก*

พบแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดใหม่ของโลก (new species) จำนวนรวม 26 สปีชีส์ เป็นโรติเฟอร์ 13 สปีชีส์, คลาโดเซอรา 1 สปีชีส์ , โคพีพอด 9 สปีชีส์ และไรน้ำนางฟ้า 3 สปีชีส์ รายละเอียดเกี่ยวกับสถานที่พบและผู้รายงานการค้นพบได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ตัวอย่างของแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดใหม่ได้แสดงไว้ในภาพที่ 1-10 และ 26-60



ภาพที่ 1-10. โรติเฟอร์ชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทย, 1-2) *Lecane shieli* Segers and Sanoamuang ด้านท้องและด้านหลัง; 3) *Lecane segersi* Sanoamuang ด้านท้อง; 4-5) *Lecane thailandensis* Segers and Sanoamuang ด้านท้องและด้านหลัง; 6) *Lecane superaculeata* Sanoamuang and Segers ด้านท้อง; 7-8) *Trichocerca siamensis* Segers and Pholpunthin ด้านข้างและด้านท้อง; 9-10) *Lecane baimaii* Sanoamuang and Savatenalinton (ที่มา: Segers and Sanoamuang, 1994; Sanoamuang, 1996; Sanoamuang and Segers, 1997; Segers and Pholpunthin, 1997; Sanoamuang and Savatenalinton, 1999)

ตารางที่ 1. แพลงก์ตอนสัตว์ชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทย

| ชื่อวิทยาศาสตร์ | สถานที่เก็บตัวอย่าง | ผู้รายงาน |
|---|---|---|
| **1. โรติเฟอร์** | | |
| 1.1 *Lecane junki* Koste | บึงบอระเพ็ด จ.นครสวรรค์ | Koste, 1975 |
| 1.2 *Lecane shieli* Segers and Sanoamuang | เขื่อนน้ำพุง จ.สกลนคร | Segers and Sanoamuang (1994) |
| 1.3 *Lecane thailandensis* Segers and Sanoamuang | เขื่อนน้ำพุง จ.สกลนคร | Segers and Sanoamuang (1994) |
| 1.4 *Lecane segersi* Sanoamuang | หนองน้ำโน จ.อุดรธานี | Sanoamuang (1996) |
| 1.5 *Cephalodella songkhlaensis* Segers and Pholpunthin | ทะเลน้อย จ.พัทลุง | Segers and Pholpunthin, 1997 |
| 1.6 *Lecane superaculeata* Sanoamuang and Segers | คลองส่งน้ำ จ.พิษณุโลก | Sanoamuang and Segers (1997) |
| 1.7 *Trichocerca siamensis* Segers and Pholpunthin | ทะเลน้อย จ.พัทลุง | Segers and Pholpunthin (1997) |
| 1.8 *Colurella sanoamuangae* Chittapun, Pholpunthin, and Segers | พรุไม้ขาว จ.ภูเก็ต | Chittapun, Pholpunthin, and Segers (1999) |
| 1.9 *Lecane baimaii* Sanoamuang and Savatenalinton | คลองทุ่งมาบ จ.นครราชสีมา | Sanoamuang and Savatenalinton (1999) |
| 1.10 *Lecane isanensis* Sanoamuang and Savatenalinton | กุดทิง จ.หนองคาย | Sanoamuang and Savatenalinton (2001) |
| 1.11 *Lecane niwati* Sanoamuang and Segers | กุดทิง จ.หนองคาย | Sanoamuang and Segers (2001) |
| 1.12 *Brachionus riverinus* Sanoamuang and Kotethip | บุ่งทาม จ.ร้อยเอ็ด | Sanoamuang and Kotethip (2001) |
| 1.13 *Keratella* sp. | พรุโต๊ะแดง จ.นราธิวาส | Chittapun and Pholpunthin (2001) |
| **2. คลาโดเซอรา** | | |
| 2.1 *Alonella orientalis* Sanoamuang and Kotethip | อุทยานแห่งชาติภูพาน จ.สกลนคร | Sanoamuang and Kotethip (2001) |
| **3. โคพีพอด** | | |
| 3.1 *Phyllodiaptomus praedictus* Dumont and Reddy | บ่อเลี้ยงปลา จ.กรุงเทพฯ | Dumont and Reddy (1994) |
| 3.2 *Phyllodiaptomus christineae* Dumont, Reddy, and Sanoamuang | บึงบอระเพ็ด จ.นครสวรรค์ | Dumont, Reddy, and Sanoamuang (1996) |
| 3.3 *Eodiaptomus sanoamuangae* Reddy and Dumont | คลองข้างถนน จ.ขอนแก่น | Reddy and Dumont (1998) |
| 3.4 *Mongolodiaptomus rarus* (Reddy, Sanoamuang, and Dumont) | บ่อชั่วคราว จ.หนองบัวลำภู | Reddy, Sanoamuang, and Dumont (1998) |
| 3.5 *Eodiaptomus phuphanensis* Sanoamuang | อุทยานแห่งชาติภูพาน จ.สกลนคร | Sanoamuang (2001a) |
| 3.6 *Phyllodiaptomus surinensis* Sanoamuang and Yindee | คลองส่งน้ำ จ.สุรินทร์ | Sanoamuang and Yindee (2001) |
| 3.7 *Mongolodiaptomus dumonti* Sanoamuang | เขื่อนลำนางรอง จ.บุรีรัมย์ | Sanoamuang (2001b) |
| 3.8 *Heliodiaptomus rangareddyi* Sanoamuang and Athibai | บ่อชั่วคราว จ.อุดรธานี | Sanoamuang and Athibai (2001) |
| 3.9 *Tropodiaptomus* sp. | แหล่งน้ำในภาคใต้ | พิมพรรณและพรศิลป์ (2542) |
| **4 ไรน้ำนางฟ้า** | | |
| 4.1 *Streptocephalus sirindhornae* Sanoamuang, Murugan, Weekers, and Dumont | บ่อชั่วคราว จ.หนองบัวลำภู | Sanoamuang et al. (2000) |
| 4.2 *Branchinella thailandensis* Sanoamuang, Saengphan, and Murugan | คลองข้างถนน จ.สุพรรณบุรี | Sanoamuang, Saengphan, and Murugan (2001) |
| 4.3 *Streptocephalus siamensis* Saengphan and Sanoamuang | บ่อชั่วคราว จ.กาญจนบุรี | Saengphan and Sanoamuang (2001) |

***ความหลากหลายของแพลงก์ตอนสัตว์ในประเทศไทย***

*โรติเฟอร์* ในอดีตมีการรวบรวมรายชื่อโรติเฟอร์ที่สำรวจพบในประเทศไทยไว้เพียง 80 สปีชีส์ (Boonsom, 1984) ผลการศึกษาของละออศรี (2537), ละออศรีและพิพัฒน์พงษ์ (2541, 2543), สุคนธ์ทิพย์ (2542), สุเปญญา และคณะ (2542), วิราวรรณ (2544), Segers and Sanoamuang (1994), Sanoamuang et al. (1995), Sanoamuang (1996, 1998b), Sanoamuang and Segers (1997), Segers and Pholpunthin (1997), Chittapun et al. (1999), Sanoamuang and Savatenalinton (1999, 2001) และ Chittapun and Pholpunthin (2001) ทำให้มีรายงานการพบโรติเฟอร์เป็นครั้งแรกในประเทศไทยเพิ่มขึ้นอีก 247 สปีชีส์ เป็นผลให้ปัจจุบันพบโรติเฟอร์ในประเทศไทยรวมทั้งสิ้น 327 สปีชีส์ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2. โรติเฟอร์ที่พบในประเทศไทย

| | | |
|---|---|---|
| **FAMILY ASPLANCHNIDAE** | *B. quadridentatus* f. *cluniorbicularis* Skorikov, 1894 | *L. costata* Wulfert, 1940 |
| *Asplanchna brightwelli* (Gosse, 1850) | *B. rotundiformis* Tschugunoff, 1921 | *L. costatoides* Segers, 1992 |
| *A. priodonta* Gosse, 1850 | *B. rubens* Ehrenberg, 1838 | *L. cristata* (Rousselet, 1893) |
| *A. sieboldi* (Leydig, 1854) | *B. sericus* Rousselet, 1907 | *L. dactyliseta* Stenroos, 1898 |
| *A. tropica* Koste and Tobias, 1987 | *B. sessilis* Varga, 1951 | *L. discoidea* Segers, 1993 |
| *Asplachnopus hyalinus* Harring, 1913 | *B. urceolaris* (Müller, 1773) | *L. ehrenbergi* (Perty, 1890) |
| *A. multiceps* (Schrank, 1793) | *B. variabilis* (Hempel, 1896) | *L. elliptica* Wulfert, 1939 |
| **FAMILY BRACHIONIDAE** | *Keratella cochlearis* (Gosse, 1951) | *L. elongata* Koste, 1991 |
| *Anuraeopsis coelata* (De Beauchamp, 1932) | *Keratella cochlearis* f. *micracantha* (Lauterborn, 1900) | *L. eurysterna* Myers |
| *A. fissa* (Gosse, 1851) | *K. edmondsoni* (Nayar, 1965) | *L. heterostyla* (Murray, 1913) |
| *A. navicula* (Rousselet, 1910) | *K. javana* (Hauer, 1937) | *L. latusinus* (Hilgendorf, 1899) |
| *Brachionus africanus* Segers | *K. lenzi* Hauer, 1953 | *L. lindaui* Koste, 1981 |
| *B. angularis* Gosse, 1851 | *K. mixta* (Oparina-Charitonuva, 1924) | *L. minoruoides* Koste and Robertson, 1983 |
| *B. angularis* f. *bidens* Plate, 1886 | *K. procurva* (Thorpe, 1891) | *L. minuta* (Montet, 1918) |
| *B. angularis* f.*chelonis* Ahlstrom, 1940 | *K. tecta* (Gosse, 1851) | *L. monodactyla* Berzins, 1960 |
| *B. bennini* (Leiszling, 1924) | *K. tropica* (Apstein, 1907) | *L. ovalis* (Müller, 1786) |
| *B. bidentatus* Anderson, 1889 | *Keratella sp.* | *L. patella* (Müller, 1786) |
| *B. bidentatus minor* Koste and Shiel, 1980 | *Plationus patulus* (Müller, 1786) | *L. quadricarinata* (Stenroos, 1898) |
| *B. budapestinensis* Daday, 1885 | *Platyias quadricornis* (Ehrenberg, 1832) | *L. quinquecostata* (Lucks, 1912) |
| *B. calyciflorus* Pallas, 1766 | **FAMILY COLURELLIDAE** | *L. rhomboides* (Gosse, 1886) |
| *B. calyciflorus* f. *amphiceros* Ehrenberg, 1838 | *Colurella adriatica* Ehrenberg, 1831 | *L. triba* Myers, 1934 |
| *B. caudatus* f. *aculeatus* Hauer, 1937 | *C. colurus* (Ehrenberg, 1830) | *L. triptera* (Ehrenberg, 1830) |
| *B. caudatus* f. *personatus* Ahlstrom, 1940 | *C. obtusa* (Gosse, 1886) | *L. triptera* f. *alata* Myers, 1934 |
| *B. dichotomus* Shephard f. *reductus* Koste and Shiel, 1980 | *C. sanoamuangae* Chittapun, Pholpunthin and Segers, 1999 | *L. vandenbrandei* Gillard, 1952 |
| *B. dimidiatus* (Bryce, 1931) | *C. sinistra* Carlin, 1939 | *Squatinella lamellaris* (Müller) f. *mutica* (Ehrenberg, 1832) |
| *B. diversicornis* (Daday, 1883) | *C. sulcata* (Stenroos, 1898) | *S. leydigii* (Zacharias, 1886) |
| *B. donneri* Brehm, 1951 | *C. tesselata* (Glascott, 1893) | **FAMILY DICRANOPHORIDAE** |
| *B. durgai* Dhanapathi, 1974 | *C. uncinata* (Müller) f. *bicuspidata* (Ehrenberg, 1832) | *Aspelta circinator* (Gosse, 1886) |
| *B. falcatus* Zacharias, 1898 | *Lepadella acuminata* (Ehrenberg, 1834) | *Dicranophorus caudatus* (Ehrenberg, 1834) |
| *B. forficula* Wierzejski, 1891 | *L. akrobeles* Myers | *D. claviger* (Hauer, 1965) |
| *B. kostei* Shiel, 1983 | *L. amphitropis* Harring, 1916 | *D. corystis* Harring and Myers, 1928 |
| *B. lyratus* Shephard, 1911 | *L. apsicora* (Myers, 1934) | *D.* cf. *epicharis* Harring and Myers, 1928 |
| *B. murphyi* Sudzuki, 1989 | *L. apsida* Harring, 1916 | *D.grandis* (Ehrenberg, 1832) |
| *B. plicatilis* (Müller, 1786) | *L. benjamini* Harring, 1916 | *D. prionacis* Harring and Myers, 1928 |
| *B. quadridentatus* Hermann, 1783 | *L. bicornis* Vasisht and Battish, 1971 | **FAMILY EPIPHANIDAE** |
| *B. quadridentatus* f. *brevispinus* Ehrenberg, 1832 | *L. biloba* (Hauer, 1958) | *Cyrtonia tuba* Ehrenberg, 1834 |
| | | *Epiphanes clavulata* (Ehrenberg, 1832) |
| | | *E. macrourus* (Barrois and Daday, 1894) |

ตารางที่ 2. (ต่อ) โรติเฟอร์ที่พบในประเทศไทย

**FAMILY EPIPHANIDAE** (cont.)

*Proalides subtilis* (Rodewald, 1940)

*P. tentaculatus* De Beauchamp, 1907

**FAMILY EUCHLANIDAE**

*Dipleuchanis propatula* (Gosse, 1886)

*Euchlanis dilatata* Ehrenberg, 1832

*E. incisa* Carlin, 1939

*E. lyra* Hudson f. *myersi* Kutikova, 1959

*E. meneta* Myers, 1930

*E. triquetra* Ehrenberg, 1838

*Manfredium eudactylotum* (Gosse, 1886)

*Tripleuchanis plicata* (Levander, 1894)

**FAMILY GASTROPODIDAE**

*Ascomorpha ecaudis* (Perty, 1850)

*A. ovalis* (Bergendal, 1892)

*A. saltans* Bartsch, 1870

*Gastropus hyptopus* (Ehrenberg, 1838)

**FAMILY ITURIDAE**

*Itura aurita* (Ehrenberg, 1830)

*I. symmetrica* Segers, Mbogo and Dumont, 1994

**FAMILY LECANIDAE**

*Lecane abanica* Segers, 1994

*L. acanthinula* (Hauer, 1938)

*L. aculeata* (Jakubski, 1912)

*L. aeganea* Harring, 1914

*L. arcuata* (Bryce, 1891)

*L. arcula* Harring, 1914

*L. aspasia* Myers, 1917

*L. baimaii* Sanoamuang and Savatenalinton, 1999

*L. batillifer* (Murray, 1913)

*L. bifurca* (Bryce, 1892)

*L. blachei* Berzinš, 1973

*L. braumi* Koste, 1988

*L. bulla* (Gosse, 1851)

*L. calcaria* Harring and Myers, 1926

*L. chinesensis* Zhuge and Koste, 1996

*L. clara* (Bryce, 1892)

*L. closterocerca* (Schmarda, 1859)

*L. crepida* Harring, 1914

*L. curvicornis* (Murray, 1913)

*L. curvicornis* f. *nitida* (Murray, 1941)

*L. decipiens* (Murray, 1913)

*L. donneri* Chengalath and Mulamoottil, 1974

*L. doryssa* Harring, 1914

*L. elegans* Harring, 1914

*L. enowi* Segers and Mertens

*L. eswari* Dhanapathi, 1976

*L. flexilis* (Gosse, 1886)

*L. furcata* (Murray, 1913)

*L. grandis* (Murray, 1913)

*L. haliclysta* Harring and Myers, 1926

*L. hamata* (Stokes, 1896)

*L. hastata* (Murray, 1913)

*L. hornemanni* (Ehrenberg, 1834)

*L. inermis* (Bryce, 1892)

*L. inopinata* Harring and Myers, 1926

*L. intrasinuata* (Olofsson, 1917)

*L. isanensis* Sanoamuang and Savatenalinton, 2001

*L. junki*, Koste, 1975

*L. lateralis* Sharma, 1978

*L. leontina* (Turner, 1892)

*L. ludwigii* (Eckstein, 1883)

*L. luna* (Müller, 1776)

*L. lunaris* (Ehrenberg, 1832)

*L. minuta* Segers, 1994

*L. mitis* Harring and Myers, 1926

*L. monostyla* (Daday, 1897)

*L. nana* (Murray, 1913)

*L. niwati* Sanoamuang and Segers, 2001

*L. obtusa* (Murray, 1913)

*L. palinacis* Harring and Myers, 1926

*L. papuana* (Murray, 1913)

*L. pertica* Harring and Myers, 1926

*L. punctata* (Murray, 1913)

*L. pusilla* Harring, 1914

*L. pyriformis* (Daday, 1905)

*L. quadridentata* (Ehrenberg, 1832)

*L. rhenana* Hauer, 1919

*L. rhytida* Harring and Myers, 1926

*L. robertsonae* Segers, 1993

*L. ruttneri* Hauer, 1938

*L. segersi* Sanoamuang, 1996

*L. serrata* (Hauer, 1933)

*L. shieli* Segers and Sanoamuang, 1994

*L. signifera* (Jennings, 1896)

*L. simonneae* Segers, 1993

*L. sola* Hauer, 1936

*L. stenroosi* (Meissner, 1908)

*L. stichaea* Harring, 1913

*L. superaculeata* Sanoamuang and Segers, 1997

*L. sympoda* Hauer, 1929

*L. syngenes* (Hauer, 1938)

*L. tabida* Harring, 1926

*L. tenuiseta* Harring, 1914

*L. thalera* (Harring and Myers, 1926)

*L. thailandensis* Segers and Sanoamuang, 1994

*L. thienemanni* (Hauer, 1938)

*L. undulata* Hauer, 1938

*L. unguitata* (Fadeev, 1925)

*L. ungulata* (Gosse, 1887)

**FAMILY MYTILINIDAE**

*Lophocharis naias* Wulfert, 1942

*L. salpina* (Ehrenberg, 1834)

*Mytilina acanthophora* Hauer, 1938

*M. bisulcata* (Lucks, 1850)

*M. compressa* (Gosse, 1851)

*M. unguipes* (Lucks, 1912)

*M. ventralis* (Ehrenberg, 1832)

**FAMILY NOTOMMATIDAE**

*Cephalodella forficula*(Ehrenberg,1832)

*C. gibba* (Ehrenberg, 1832)

*C.* cf. *hyalina* Myers, 1924

*C. innesi* Myers, 1924

*C. mucronata* Myers, 1924

*C.* cf. *pachyodon* Wulfert, 1937

*C. songkhlaensis* Segers and Pholpunthin, 1997

*C. tenuior* Gosse, 1886

*C. ventripes* Dixon-Nuttall, 1901

ตารางที่ 2. (ต่อ) โรติเฟอร์ที่พบในประเทศไทย

| **FAMILY NOTOMMATIDAE** (cont.) | **FAMILY TRICHOCERCIDAE** (cont.) | **FAMILY CONOCHILIDAE** |
|---|---|---|
| *Eosphora* cf. *thoides* Wulfert, 1935 | *T. chattoni* (De Beauchamp, 1907) | *Conochilus coenobasis* (Skorikov, 1914) |
| *Monommata actices* Myers, 1930 | *T. collaris* (Rousselet, 1896) | *C. dossuarius* (Hudson, 1885) |
| *M. caudata* Myers, 1930 | *T. cylindrica* (Imhof, 1891) | *C. hippocrepis* (Schrank, 1803) |
| *M. dentata* Wulfert, 1940 | *T. elongata* Gosse, 1886 | *C. natans* (Seligo) |
| *M. grandis* Tessin, 1890 | *T. euodonta* Hauer, 1938 | **FAMILY FILINIIDAE** |
| *M. longiseta* (Müller, 1786) | *T. flagellata* Hauer, 1937 | *Filinia camasecla* Myers, 1938 |
| *M. maculata* Harring and Myers, 1924 | *T. hollaerti* De Smet, 1990 | *F. longiseta* (Ehrenberg, 1834) |
| *Notommata copeus* Ehrenberg, 1834 | *T. inermis* (Linder, 1904) | *F. novaezealandiae* Shiel and Sanoamuang, 1993 |
| *N. pachyura* (Gosse, 1886) | *T. insignis* (Herrick, 1885) | *F. opoliensis* (Zacharias, 1898) |
| *N. pseudocerberus* De Beauchamp, 1908 | *T. insulana* (Hauer, 1938) | *F. saltator* (Gosse, 1886) |
| *N. pygmaea* Harring and Myers, 1922 | *T. jenningsi* Voigt, 1957 | **FAMILY FLOSCULARIIDAE** |
| *N. saccigera* Ehrenberg, 1832 | *T. longiseta* (Schrank, 1802) | *Beauchampia crucigera* (Dutrochet, 1812) |
| *Taphrocampa annulosa* Gosse, 1851 | *T. montana* Hauer, 1956 | *Floscularia conifera* (Hudson, 1886) |
| *Tetrasiphon hydrocora* Ehrenberg, 1840 | *T. orca* (Harring, 1913) | *F. decora* Edmondson, 1940 |
| **FAMILY SCARIDIIDAE** | *T. porcellus* (Gosse, 1886) | *F. melicerta* Ehrenberg, 1832 |
| *Scaridium bostjani* Daems and Dumont, 1974 | *T. pusilla* (Lauterborn, 1898) | *F. ringens* Linne, 1758 |
| *S. elegans* Segers and De Meester, 1994 | *T. relicta* Donner, 1950 | *Lacinularia* sp. |
| *S. longicaudum* (Müller, 1786) | *T. rosea* (Stenroos, 1898) | *Limnias ceratophylli* Schrank, 1803 |
| *S. grandis* Segers, 1995 | *T. rousseleti* (Voigt, 1902) | *L. melicerta* Weisse, 1848 |
| **FAMILY SYNCHAETIDAE** | *T. ruttneri* Donner, 1953 | *Ptygyra brachiata* (Hudson, 1886) |
| *Ploesoma hudsoni* (Imhof, 1891) | *T. scipio* Gosse, 1886 | *P. elsteri* f. *thailandensis* (Koste, 1975) |
| *P. lenticulare* Herrick, 1885 | *T. siamensis* Segers and Pholpunthin, 1997 | *P. furcillata* (Kellicott, 1889) |
| *Polyarthra longiremis* (Carlin, 1943) | *T. similis* (Wierzejski, 1893) | *P. furcillata* f. *variabilis* (Koste, 1975) |
| *P. major* Burckhardt, 1900 | *T. simonei* De Smet, 1989 | *P. mucicola* (Kellicott, 1889) |
| *P. vulgaris* Carlin, 1943 | *T. stylata* (Gosse, 1851) | *P. tacita* Edmondson, 1970 |
| *Synchaeta longipes* Ehrenberg, 1887 | *T. tenuidens* (Hauer, 1931) | *Sinantherina areprepes* Edmondson, 1939 |
| *S. pectinata* Ehrenberg, 1832 | *T. tenuior* (Gosse, 1886) | *S. semibullata* (Thorpe, 1889) |
| *S. stylata* Wierzejski, 1893 | *T. tigris* (Müller, 1786) | *S. socialis* (Linne, 1758) |
| **FAMILY TRICHOCERCIDAE** | *T. tropis* Hauer, 1938 | *S. spinosa* (Thorpe, 1893) |
| *Trichocerca abilio* Segers, 1993 | *T. vernalis* (Hauer, 1936) | **FAMILY HEXARTHRIDAE** |
| *T. agnatha* Wulfert, 1939 | *T. weberi* (Jennings, 1903) | *Hexarthra fennica* (Levander, 1892) |
| *T. bicristata* (Gosse, 1887) | **FAMILY TRICHOTRIIDAE** | *H. intermedia* Wiszniewski, 1929 |
| *T. bidens* (Lucks, 1912) | *Macrochaetus collinsi* (Gosse, 1867) | *H. mira* (Hudson, 1871) |
| *T. braziliensis* (Murray, 1913) | *M. danneeli* Koste and Shiel, 1983 | *H. oxyuris* (Sernov, 1903) |
| *T. capucina* Wierzejski and Zacharias, 1893 | *M. longipes* Myers, 1934 | *Trochosphaera equatorialis* (Semper, 1872) |
| *Pompholyx complanata* Gosse, 1851 | *M. sericus* (Thorpe, 1893) | **FAMILY ATROCHIDAE** |
| *Testudinella ahlstromi* Hauer, 1956 | *M. subquadratus* (Perty, 1850) | *Cupelopagis vorax* (Leidy, 1857) |
| *T. amphora* Hauer, 1938 | *Trichotria tetractis* (Ehrenberg, 1830) | **FAMILY COLLOTHECIDAE** |
| *T. brevicaudata* Yamamoto, 1951 | *Wolga spinifera* Western, 1894 | *Collotheca campanulata* (Dobie, 1849) |
| *T. emarginula* (Stenroos, 1898) | *T. mucronata* (Gosse, 1886) | *C. edentata* (Collins, 1872) |
| *T. greeni* Koste, 1981 | *T. parva* (Ternetz, 1892) | *C. tenuilobata* (Anderson, 1889) |
| *T.* cf. *insuata* Hauer, 1937 | *T. patina* (Hermann, 1783) | |
| | *T. patina* f. *intermedia* (Anderson, 1889) | |
| | *T. tridentata* Smirnov, 1931 | |
| | *T. walkeri* Koste and Shiel, 1980 | |

ผลการวิจัยของละออศรีและพิพัฒน์พงษ์ (2541, 2543) ซึ่งศึกษาความหลากชนิดและการแพร่กระจายของโรติเฟอร์ในแหล่งน้ำจืดของจังหวัดต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 140 แหล่งน้ำ รวม 420 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2540 ถึงกรกฎาคม 2543 โดยแต่ละแหล่งน้ำเก็บตัวอย่าง 3 ครั้งตามฤดูกาล พบโรติเฟอร์รวมทั้งสิ้น 270 สปีชีส์ ในจำนวนนี้เป็นโรติเฟอร์ชนิดใหม่ของโลก 2 สปีชีส์ และชนิดที่พบเป็นครั้งแรกในประเทศไทยจำนวน 41 สปีชีส์ สกุลที่มีสมาชิกมากที่สุดได้แก่ *Lecane* (66 สปีชีส์) รองลงมาคือ *Trichocerca* (35 สปีชีส์), *Lepadella* (30สปีชีส์), และ *Brachionus* (24 สปีชีส์) ส่วนใหญ่โรติเฟอร์ที่พบเป็นชนิดที่แพร่กระจายอยู่ทั่วโลกและพบทั่วไปในเขตร้อนของซีกโลกตะวันออก (Eastern hemisphere species) (ตารางที่ 3) ตัวอย่างโรติเฟอร์ที่พบบ่อย (common species) และแพร่กระจายอยู่ทั่วประเทศได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 นอกจากนี้ยังพบว่ามีชนิดที่พบเฉพาะในประเทศไทยเท่านั้น (endemic to Thailand) จำนวน 7 สปีชีส์ มีชนิดที่พบอาศัยอยู่เฉพาะในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียใต้ (endemic to Southeast and South Asia) จำนวน 6 สปีชีส์ และชนิดที่อาศัยอยู่ในเขตเอเชียและออสเตรเลีย (endemic to Australasia) ด้วยจำนวน 7 สปีชีส์ (ตารางที่ 5) ซึ่งแสดงว่าโรติเฟอร์ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับบริเวณเขตร้อนของเอเชียใต้และออสเตรเลีย

ตารางที่ 3. โรติเฟอร์ในประเทศไทยที่จัดเป็นชนิดที่พบในซีกโลกตะวันออก (Eastern hemisphere species)

| | | |
|---|---|---|
| *Asplanchna tropica* Koste and Tobias, 1987 | *Lecane braumi* Koste, 1988 | *Lepadella discoidea* Segers, 1993 |
| *Brachionus africanus* Segers, 1994 | *L. eswari* Dhanapathi, 1975 | *L. vandenbrandei* Gillard, 1952 |
| *B. diversicornis* (Daday, 1883) | *L. lateralis* Sharma, 1978 | *Scaridium grande* Segers, 1995 |
| *B. forficula* Wierzejski, 1891 | *L. serrata* (Hauer, 1933) | *Testudinella brevicaudata* Yamamoto, 1951 |
| *Keratella javana* Hauer, 1981 | *L. simonneae* Segers, 1993 | *T. greeni* Koste, 1981 |
| *K. javana* Hauer, 1937 | *L. unguitata* (Fadeev, 1925) | *Trichocerca tropis* Hauer, 1938 |
| *Lecane baimaii* Sanoamuang and Savatenalinton, 1999 | | |

ตารางที่ 4. โรติเฟอร์ที่พบบ่อย (common species) ในประเทศไทย

| | | |
|---|---|---|
| *Anuraeopsis fissa* (Gosse, 1851) | *Filinia novaezealandiae* Shiel and Sanoamuang, 1993 | *Lecane bulla* (Gosse, 1886) |
| *Brachionus angularis* Gosse, 1851 | *F. opoliensis* (Zacharias, 1898) | *L. papuana* (Murray, 1913) |
| *B. calyciflorus* Pallas, 1766 | *Keratella cochlearis* (Gosse, 1951) | *Plationus patulus* (Muller, 1786) |
| *B. falcatus* Zacharias, 1898 | *K. tropica* (Apstein, 1907) | *Polyarthra vulgaris* Carlin, 1943 |
| *B. forficula* Wierzejski, 1891 | | *Trichocerca similis* (Wierzejski, 1893) |
| *Filinia longiseta* (Ehrenberg, 1834) | | |

ตารางที่ 5. โรติเฟอร์ประจำถิ่นของประเทศไทย

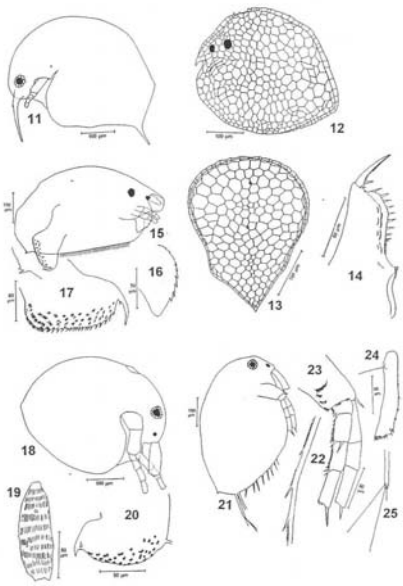
| ชนิดประจำถิ่นของไทย (endemic to Thailand) | ชนิดประจำถิ่นของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียใต้ (endemic to S. and SE Asia) | ชนิดประจำถิ่นของออสตราเลเชีย (endemic to Australasia) |
|---|---|---|
| *Brachionus riverus* Sanoamuang and Kotethip, 2001 | *Brachionus murphyi* Sudzuki, 1989 | *Brachionus dichotomus* f. *reductus* Koste and Shiel, 1980 |
| *Lecane isanensis* Sanoamuang and Savatenalinton, 2001 | *Keratella edmondsoni* Ahlstromi, 1943 | *B. kostei* Shiel, 1983 |
| *L. junki* Koste, 1975 | *Lecane acanthinula* (Hauer, 1938) | *B. lyratus* Shephard, 1911 |
| *L. niwati* Segers and Sanoamuang, 2001 | *L. blachei* Berzins, 1973 | *Lecane batillifer* (Murray, 1913) |
| *L. segersi* Sanoamuang, 1996 | *L. chinesensis* Zhuge and Koste, 1996 | *Macrochaetus danneeli* Koste and Shiel, 1983 |
| *L. shieli* Segers and Sanoamuang, 1994 | *L. thailandensis* Segers and Sanoamuang, 1994 | *Testudinella walkeri* Koste and Shiel, 1980 |
| *L. superaculeata* Sanoamuang and Segers, 1997 | | *Trichocerca orca* (Murray, 1913) |

*คลาโดเซอรา* การศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของคลาโดเซอราในประเทศไทยนับว่ายังมีน้อยกว่ากลุ่มอื่น Boonsom (1984) รายงานพบคลาโดเซอราทั่วประเทศจำนวน 30 สปีชีส์ ถึงแม้ว่าที่ผ่านมามีการค้นพบคลาโดเซอราชนิดใหม่เพียง 1 สปีชีส์ (ตารางที่ 1) Sanoamuang (1998a) เก็บตัวอย่างจำนวนประมาณ 200 ตัวอย่างจาก แหล่งน้ำ 93 แห่ง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลการศึกษาพบคลาโดเซอราจำนวน 60 สปีชีส์ ในจำนวนนี้เป็นชนิดที่พบเป็นครั้งแรกในประเทศไทย 31 สปีชีส์ คลาโดเซอราส่วนใหญ่เป็นชนิดที่พบแพร่หลายอยู่ทั่วไปในเขตร้อน (ตารางที่ 6) ซึ่งแฟมิลี่ที่มีสมาชิกมากที่สุดถึง 48 สปีชีส์ ได้แก่ Chydoridae รองลงมาคือ Macrothricidae 11 สปีชีส์ ชนิดที่พบบ่อยในประเทศไทยได้แสดงไว้ด้วยเครื่องหมาย * นอกจากนี้ยังพบสกุลที่เคยมีรายงานว่าอาศัยอยู่เฉพาะในทวีปอเมริกาใต้เท่านั้น จำนวน 1 สปีชีส์ สกุล *Leydigiopsis* โดยพบในบึงผึ้ง จังหวัดกาฬสินธุ์เท่านั้น จุฑามาส (2544) และ Sanoamuang et al. (2001a) เก็บตัวอย่างคลาโดเซอราจากกุดทิง จังหวัดหนองคาย โดยเก็บตัวอย่างเดือนละครั้งตั้งแต่เดือนมกราคมถึงธันวาคม 2541 ผลการศึกษาพบว่ากุดทิงเป็นแหล่งน้ำธรรมชาติที่มีคลาโดเซอราหลากหลายมาก กล่าวคือพบมากถึง 53 สปีชีส์ ในจำนวนนี้เป็นชนิดที่พบเป็นครั้งแรกในประเทศไทยจำนวน 15 สปีชีส์ ศิริชัย (2544) ศึกษาคลาโดเซอราในป่าบุ่งป่าทามบริเวณลุ่มน้ำมูลตอนบน พบคลาโดเซอราที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนเพิ่มขึ้นอีก 2 สปีชีส์ ทำให้ปัจจุบันมีรายงานการพบคลาโดเซอราในประเทศไทยรวมทั้งสิ้น 78 สปีชีส์ (ตารางที่ 6) ซึ่งมากกว่าในประเทศมาเลเซีย (62 สปีชีส์ รายงานโดย Idris, 1983) และฟิลิปปินส์ (49 สปีชีส์ รายงานโดย Mamaril and Fernando, 1978) ตัวอย่างคลาโดเซอราที่พบในประเทศไทยได้แสดงไว้ในภาพที่ 11-25

ตารางที่ 6. คลาโดเซอราที่พบในประเทศไทย

| | | |
|---|---|---|
| **FAMILY BOSMINIDAE** | **FAMILY CHYDORIDAE (cont.)** | **FAMILY DAPHNIIDAE (cont.)** |
| ***Bosmina meridionalis* Sars, 1903** | ***Chydorus eurynotus* Sars, 1901** | *S. mesorostris* Orlova-Bienkowskaja, 1995 |
| ***Bosminopsis deitersi* Richard, 1897** | *C. obscurirostris* Frey, 1987 | *S. serrulatus* (Koch, 1841) |
| **FAMILY CHYDORIDAE** | *C. parvus* Daday, 1898 | *S. vetulus* (Muller, 1776) |
| *Acroperus harpae* (Baird, 1834) | *C. sinensis* Frey, 1987 | **FAMILY ILYOCRYPTIDAE** |
| *Alona affinis* (Leydig, 1860) | *C. ventricosus* Daday, 1898 | *Ilyocryptus spinifer* Herrick, 1882 |
| A. *archeri* Sars, 1888 | *Dadaya macrops* (Daday, 1898) | **FAMILY MACROTHRICIDAE** |
| *A. cambouei* Guerne and Richard, 1893 | *Disparalona hamata* (Birge, 1879) | *Grimaldina brazzai* Richard, 1892 |
| *A. costata* Sars, 1862 | *D. caudata* Smirnov, 1996 | *Guernella raphaelis* Richard, 1892 |
| *A. diaphana* King, 1853 | *Dunhevedia crassa* King, 1853 | *Macrothrix flabelligera* Smirnov, 1992 |
| *A. guttata* Sars, 1862 | *D. serrata* Daday, 1898 | *M. laticornis* (Fischer, 1851) |
| *A. intermedia* Sars | *Ephemeroporus barroisi* (Richard, 1894) | *M. malaysiensis* Idris and Fernando, 1981 |
| *A. karua* (King, 1853) | *Euryalona orientalis* (Daday, 1898) | *M. odiosa* Gurney, 1916 |
| *A. macronyx* Daday, 1898 | *Graptoleberis testudinaria* (Fischer, 1851) | *M. paulensis* (Sars, 1900) |
| *A. milleri* Kiser, 1948 | *Kurzia longirostris* (Daday, 1898) | *M. sioli* (Smirnov, 1982) |
| *A. monacantha tridentata* Sars, 1901 | *Leydigia acanthocercoides* (Fischer, 1854) | *M. spinosa* King, 1853 |
| *A. pulchella* King, 1853 | *L. ciliata* Gauthier, 1939 | *M. triserialis* Brady, 1886 |
| *A. quandranularis* (Muller, 1785) | *L. laevis* Gurney, 1927 | *Streblocerus pygmaeus* Sars, 1901 |
| *A. rectangula* Sars, 1862 | *Leydigiopsis* Sars, 1901 | **FAMILY MOINIDAE** |
| *A. verrucosa pseudoverrucosa* Smirnov, 1974 | *Nicsmirnovius eximia* (Kiser, 1948) | ***Moina micrura* Kurz, 1874** |
| *A. verrucosa verrucosa* Sars, 1901 | *Notoalona globulosa* (Daday, 1898) | *Moinodaphnia macleayi* (King, 1853) |
| *Alonella clathratula* Sars, 1896 | *Oxyurella singalensis* (Daday, 1898) | FAMILY SIDIDAE |
| *A. excisa* (Fischer, 1854) | *Picripleuroxus laevis* Sars, 1862 | ***Diaphanosoma excisum* Sars, 1885** |
| *A. nana* (Baird, 1850) | *C. pubescens* Sars, 1901 | *D. sarsi* Richard, 1894 |
| *A. orientalis* Sanoamuang and Kotethip, 2001 | *C. reticulatus* Daday, 1898 | *D. volzi* Stingelin, 1905 |
| *Camptocercus australis* Sars, 1896 | **FAMILY DAPHNIIDAE** | *Latonopsis australis* Sars, 1888 |
| *C. rectirostris* Schoedler, 1862 | ***Ceriodaphnia cornuta* Sars, 1885** | *Pseudosida bidentata* Herrick, 1884 |
| *C. uncinatus* Smirnov, 1971 | *Daphnia lumholtzi* Sars, 1885 | *P. ramosa* Daday, 1904 |
| | *Scapholeberis kingi* Sars, 1903 | *Sida crystallina* Muller, 1776 |
| | *Simocephalus exspinosus* (Koch, 1941) | |

*โคพีพอด* แพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ คาลานอยด์ (Calanoid copepods) และไซโคลพอยด์ (Cyclopoid copepods) การศึกษาความหลากชนิดของโคพีพอดในประเทศไทยเริ่มตั้งแต่ปีพ.ศ. 2537 จากการศึกษาของ ละออศรี (2537), พิมพรรณ และพรศิลป์ (2542), วีระ (2544), Dumont et al. (1996), Pholpunthin (1997), Sanoamuang (1999, 2001a, 2001b, 2001c), Reddy et al. (1998), Sanoamuang and Athibai (2001), และ Sanoamuang and Yindee (2001) ทำให้พบโคพีพอดกลุ่มคาลานอยด์ 26 สปีชีส์ (ตารางที่ 7) และกลุ่มไซโคลพอยด์ 20 สปีชีส์ (ตารางที่ 8) รวม 45 สปีชีส์ ซึ่งเดิม Boonsom (1984) รายงานว่าพบโคพีพอดกลุ่มคาลานอยด์ 5 สปีชีส์ และกลุ่มไซโคลพอยด์ 9 สปีชีส์ โคพีพอดที่พบส่วนใหญ่เป็นชนิดที่มีการแพร่กระจายอยู่เฉพาะในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และเอเชียใต้ พบในประเทศไทยเพียง 7 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ *Eodiaptomus phuphanensis, Heliodiaptomus rangareddyi, Mongolodiaptomus dumonti, M. rarus, Phyllodiaptomus christineae, P. praedictus,* และ *P. surinensis* สำหรับโคพีพอดชนิดที่พบบ่อยในประเทศไทยได้แสดงไว้ด้วยเครื่องหมาย * ในตารางที่ 7 และ 8



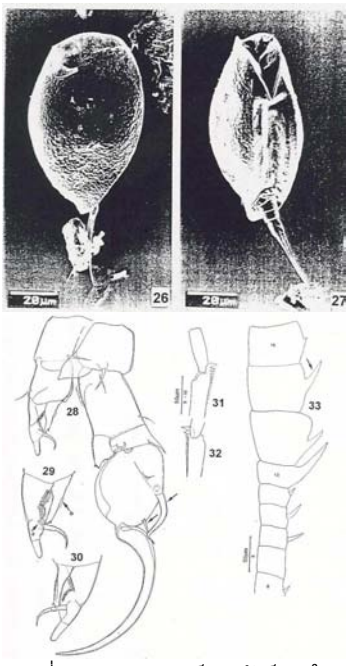

ภาพที่ 11-25. ตัวอย่างคลาโดเซอราที่พบในประเทศไทย, 11) *Bosmina meridionalis* Sars; 12-14) *Chydorus sinensis* Frey; 15-17) *Dunhevedia serrata* Daday; 18-20) *Guernella raphaelis* Richard; 21-25) *Macrothrix flabelligera* Smirnov (ที่มา: Sanoamuang, 1998)

ตารางที่ 7. โคพีพอดกลุ่มคาลานอยด์ (Calanoid copepods) ที่พบในประเทศไทย

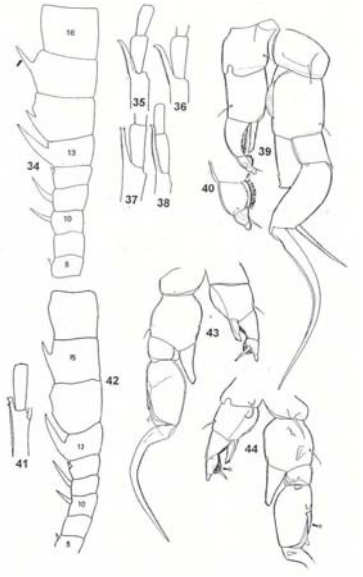
| | |
|---|---|
| **FAMILY ACARTIIDAE** | **FAMILY DIAPTOMIDAE (cont.)** |
| *Acartiella sinensis* Shen and Lee, 1963 | *M. malaindosinensis* (Lai and Fernando, 1978) |
| **FAMILY CENTROPAGIDAE** | *M. rarus* (Reddy, Sanoamuang and Dumont, 1998) |
| *Sinocalanus laevidactylus* Shen and Tai, 1964 | *M. uenoi* (Kikuchi, 1936) |
| **FAMILY DIAPTOMIDAE** | *Neodiaptomus blachei* Brehm, 1933 |
| *Allodiaptomus raoi* Kiefer, 1936 | ***N. yangtsekiangensis* Mashiko, 1951** |
| *Dentodiaptomus javanus* (Grochmalicki, 1915) | *N. laii* Kiefer, 1974 |
| *Eodiaptomus draconisignivomi* Brehm, 1952 | *Phyllodiaptomus christineae* Dumont, Reddy and Sanoamuang 1996 |
| *E. phuphanensis* Sanoamuang, 2001 | ***P. praedictus* Dumont and Reddy, 1994** |
| *E. sanoamuangae* Reddy and Dumont, 1998 | *P. surinensis* Sanoamuang and Yindee, 2001 |
| *Heliodiaptomus elegans* Kiefer, 1935 | *Tropodiaptomus oryzanus* Kiefer, 1937 |
| *H. rangareddyi* Sanoamuang and Athibai, 2001 | *T. vicinus* Kiefer,1930 |
| *H. viduus* (Gurney, 1916) | *Tropodiaptomus* sp. พิมพรรณ และพรศิลป์ (2542) |
| ***Mongolodiaptomus botulifer* (Kiefer, 1974)** | **FAMILY PSEUDODIAPTOMIDAE** |
| ***M. calcarus* (Shen and Tai, 1965)** | *Schmackeria* sp. |
| *M. dumonti* Sanoamuang, 2001 | |

ตารางที่ 8. โคพีพอดกลุ่มไซโคลพอยด์ (Cyclopoid copepods) ที่พบในประเทศไทย

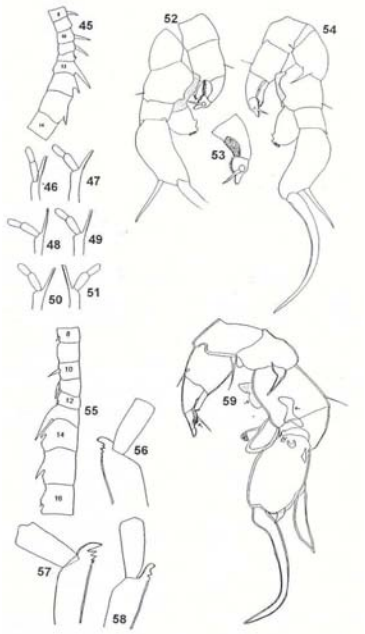
| | |
|---|---|
| **FAMILY CYCLOPIDAE** | ***Thermocyclops crassus* (Fischer, 1853)** |
| **SUBFAMILY CYCLOPINAE** | *T. decipiens* (Kiefer, 1929) |
| *Apocyclops* sp. | *T. oblongatus* (Sars, 1927) |
| *Cryptocyclops bicolor* Sars, 1963 | *T. taihokuensis* (Harada, 1931) |
| *Mesocyclops aspericornis* (Daday, 1906) | *Thermocyclops sp.* |
| *M. ferjemurami* Holynska and Nam, 2000 | **SUBFAMILY EURYCYCLOPINAE** |
| *M. splendidus* Lindberg, 1943 | *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851) |
| ***M. thermocyclopoides* (Harada, 1931)** | *Ectocyclops phaleratus* (Koch, 1930) |
| *Mesocyclops* sp. | *E. rubescens* Brady, 1904 |
| *Metacyclops* sp. | *Macrocyclops* sp. |
| ***Microcyclops varicans* Sars, 1918** | *Paracyclops fimbriatus* (Fischer) |
| | *Tropocyclops prasinus* (Fischer, 1860) |




ภาพที่ 26-33. แพลงก์ตอนสัตว์ชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทย, 26-27) โรติเฟอร์, *Colurella sanoamuangae* Chittapun, Pholpunthin and Segers; 28-33) โคพีพอด, *Phyllodiaptomus christineae* Dumont, Reddy and Sanoamuang ขาคู่ที่ 5 และหนวดคู่ที่1 ของเพศผู้ (ที่มา: Chittapun et al., 1999; Dumont et al., 1996)




ภาพที่ 34-44. โคพีพอดชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทย แสดงรายละเอียดของหนวดคู่ที่1 และขาคู่ที่ 5 ของเพศผู้, 34-40) *Eodiptomus sanoamuangae* Reddy and Dumont; 41-44) *Mongolodiaptomus rarus* (Reddy, Sanoamuang and Dumont) (ที่มา: Reddy and Dumont, 1998; Reddy et al., 1998)




ภาพที่ 45-59. โคพีพอดชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทย แสดงรายละเอียดของหนวดคู่ที่1 และขาคู่ที่ 5 ของเพศผู้, 45-54) *Eodiaptomus phuphanensis* Sanoamuang; 55-59) *Phyllodiaptomus surinensis* Sanoamuang and Yindee (ที่มา: Sanoamuang, 2001a; Sanoamuang and Yindee, 2001)

*ไรน้ำนางฟ้า* งานวิจัยเกี่ยวกับความหลากชนิดของไรน้ำนางฟ้าในประเทศไทยเริ่มเมื่อปีพ.ศ. 2541 โดยคณะวิจัย (ละออศรี, 2541ก, 2541ข; ละออศรี และคณะ, 2543; ปริญดา, 2544; ศุจิภรณ์, 2544; สุพัสตรา, 2544; Sanoamuang et al., 2000, 2001b; Saengphan and Sanoamuang, 2001) ได้สำรวจไรน้ำนางฟ้าจากแหล่งน้ำจืดทั่วประเทศไทย ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2542 ถึงสิงหาคม 2543 พบไรน้ำนางฟ้าชนิดใหม่จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ 1) ไรน้ำนางฟ้าสิรินธร (*Streptocephalus sirindhornae* Sanoamuang et al., 2000) ตัวใสหางแดง ยาว 1.5-3.0 เซนติเมตร เป็นชนิดที่พบแพร่หลายกว่าชนิดอื่น พบในบ่อ คลอง และนาข้าว ในเขต 38 จังหวัด ได้แก่ ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู มหาสารคาม ร้อยเอ็ด กาฬสินธุ์ ยโสธร อำนาจเจริญ อุบลราชธานี สุรินทร์ บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ ชัยภูมิ นครราชสีมา มุกดาหาร นครพนม สกลนคร หนองคาย เลย เพชรบูรณ์ พิษณุโลก พิจิตร สุโขทัย ตาก ลำปาง อุตรดิตถ์ แพร่ เชียงราย น่าน สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี ลพบุรี สระบุรี เพชรบุรี ชัยนาท อุทัยธานี และประจวบคีรีขันธ์ 2) ไรน้ำนางฟ้าไทย (*Branchinella thailandensis* Sanoamuang, Saengphan and Murugan) ตัวสีส้มแดงตลอดทั้งตัว ยาว 1.7-3.9 เซนติเมตร พบในเขต 11 จังหวัด ได้แก่ ขอนแก่น มหาสารคาม ร้อยเอ็ด นครราชสีมา ชัยภูมิ ลพบุรี ชัยนาท กาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี และอุทัยธานี 3) ไรน้ำนางฟ้าสยาม (*Streptocephalus siamensis* Saengphan and Sanoamuang) ตัวใส หรือสีฟ้าอ่อน หางสีแดง ยาว 1.1-2.0 เซนติเมตร ตัวเมียมีไข่เป็นรูปสามเหลี่ยมคล้ายปิรามิด (tetrahedral eggs) เป็นชนิดที่หายากมาก ปัจจุบันพบที่จังหวัดสุพรรณบุรี และกาญจนบุรีเท่านั้น ไรน้ำนางฟ้าทั้งสามชนิดนี้จัดเป็นสัตว์น้ำประจำถิ่น (endemic species) ที่พบในประเทศไทยเท่านั้น

***ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์กับปัจจัยทางนิเวศวิทยา***

การเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์กับปัจจัยทางนิเวศวิทยาพบว่า ความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยังไม่ชัดเจน เนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างตามฤดูกาลมีน้อย โดยช่วงที่เก็บตัวอย่างน้ำมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 23-38$^{\circ}$C (ส่วนใหญ่อุณหภูมิของน้ำประมาณ 30$^{\circ}$C) มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 6.0-9.4 แต่แพลงก์ตอนสัตว์มีความสัมพันธ์กับความเค็มและค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ กล่าวคือมีบางชนิดที่อาศัยอยู่เฉพาะในแหล่งน้ำกร่อย (มีค่าความเค็ม 0.5-4.0% และค่าการนำไฟฟ้า 670-8,000 $\mu$S cm$^{-1}$) เท่านั้น ได้แก่ *Brachionus plicatilis* (Muller), *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff, *Filinia saltator* (Gosse), *Hexarthra fennica* (Levander), *Hexarthra oxyuris* (Sernov), *Keratella procurva* (Thrope), และ *Lecane thalera* Harring and Myers เป็นต้น

ภาพที่ 60. ไรน้ำนางฟ้าสิรินธร (*Streptocephalus sirindhornae* Sanoamuang, Murugan, Weekers and Dumont)

**บทสรุป**

ผลการศึกษาความหลากหลายของแพลงก์ตอนสัตว์น้ำจืดในประเทศไทย 4 กลุ่ม ได้แก่ โรติเฟอร์ คลาโดเซอรา โคพีพอด และไรน้ำนางฟ้า ทำให้ทราบว่าปัจจุบันประเทศไทยมีรายงานการพบโรติเฟอร์จำนวน 327 สปีชีส์ คลาโดเซอรา 78 สปีชีส์, โคพีพอด 45 สปีชีส์ และไรน้ำนางฟ้า 3 สปีชีส์ ในจำนวนนี้เป็นชนิดใหม่ของโลกจำนวน 26 สปีชีส์ ปัจจุบันมีชนิดประจำถิ่นจำนวน 18 สปีชีส์ เป็นโรติเฟอร์ 7 สปีชีส์, คลาโดเซอรา 1 สปีชีส์, โคพีพอด 7 สปีชีส์ และไรน้ำนางฟ้า 3 สปีชีส์ แพลงก์ตอนสัตว์ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เอเชียใต้ และออสเตรเลีย มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์กับอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำยังไม่ชัดเจน แต่มีความสัมพันธ์กับความเค็มและค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ

โรติเฟอร์และคลาโดเซอราเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีการแพร่กระจายได้แพร่หลายกว่ากลุ่มอื่น โดยบางชนิดพบอาศัยทั้งในประเทศไทย เอเชียใต้และออสเตรเลีย เช่น โรติเฟอร์ที่แสดงไว้ในตารางที่ 5 สำหรับคลาโดเซอราที่พบทั้งในประเทศไทยและออสเตรเลีย ได้แก่ *Daphnia lumholtzi, Macrothrix flabelligera* และ *Latonopsis australis* เป็นต้น ทั้งนี้ เป็นเพราะทั้งโรติเฟอร์และคลาโดเซอรามีการสืบพันธุ์ ทั้งแบบอาศัยเพศ และแบบพาร์ทีโนเจนนีซิส (parthenogenesis) ทำให้มีการสร้างไข่พักตัว (resting eggs) ซึ่งสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อม ในทางตรงกันข้ามโคพีพอดและไรน้ำนางฟ้ามีการแพร่กระจายที่ค่อนข้างจำกัด โดยโคพีพอดในประเทศไทยบางชนิด พบว่า แพร่กระจายในเขตเอเชียใต้ด้วย แต่ไม่พบที่ออสเตรเลีย เช่น *Allodiaptomus raoi, Heliodiaptomus elegans* และ *H. viduus* พบที่ประเทศอินเดีย ชนิดที่พบในบริเวณตอนใต้ของจีน ได้แก่ *Dentodiaptomus javanus, Eodiaptomus sanoamuangae, Mongolodiaptomus calcarus, M. ueno,* และ *Neodiaptomus yangtsekiangensis* สำหรับไรน้ำนางฟ้าถึงแม้ว่าจะสามารถสร้างไข่พักตัวได้ แต่อาจมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ที่ทำให้ไรน้ำนางฟ้ามีการแพร่กระจายจำกัด โดยไรน้ำนางฟ้าทั้งสามชนิดที่พบในไทยปัจจุบันยังไม่พบในประเทศอื่น อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของไรน้ำนางฟ้าน้อยมาก ดังนั้นเพื่อให้ทราบถึงการแพร่กระจายของไรน้ำนางฟ้า จึงควรมีการศึกษาด้านนี้ให้มากขึ้น

คณะวิจัยได้จัดทำระบบเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์เพื่อใช้เป็นแหล่งอ้างอิง (reference collection) สำหรับนักวิจัยที่สนใจ สามารถติดต่อขอใช้บริการได้ที่ รศ.ดร.ละออศรี เสนาะเมือง พิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และที่ รศ.ดร.พรศิลป์ ผลพันธิน พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ถึงแม้การศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของแพลงก์ตอนสัตว์มีมากพอสมควร แต่ข้อมูลที่ได้ยังไม่ครบถ้วนสมบูรณ์ โดยยังขาดข้อมูลแพลงก์ตอนสัตว์ในภาคเหนือ และปัจจุบันการศึกษาอนุกรมวิธานของโรติเฟอร์ได้ทำการจำแนกชนิดเฉพาะโรติเฟอร์ในคลาสโมโนโกนอนตา (Class Monogononta) เท่านั้น ยังไม่ได้จำแนกโรติเฟอร์ในคลาสไดโกนอนตา (Class Digononta) ซึ่งมีความหลากชนิดน้อยกว่า แต่อย่างไรก็

ตาม การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบถึงสถานภาพข้อมูลพื้นฐานของแพลงก์ตอนสัตว์ด้านต่างๆ ได้แก่ อนุกรมวิธาน ชนิดประจำถิ่น การแพร่กระจาย ฤดูกาลที่พบ แหล่งที่อยู่อาศัย ความสัมพันธ์ของชนิดกับปัจจัยทางนิเวศวิทยาของแหล่งน้ำ อันก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ และนำไปสู่การตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติได้

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 144002 และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

จุฑามาส แสงอรุณ. 2544. ความหลากชนิดและความชุกชุมของคลาโดเซอราในกุดทิง จังหวัดหนองคาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (BRT 541065).

ธิดา เพชรมณี. 2530. อาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน “โรติเฟอร์”. วารสารการประมง 40: 383-384.

ปริญดา ตั้งปัญญาพร. 2544. ความหลากชนิดและการแพร่กระจายของไรน้ำนางฟ้าในเขตจังหวัดสกลนครและนครพนม" รายงานความก้าวหน้าวิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (BRT 542032).

พิมพรรณ ตันสกุล และพรศิลป์ ผลพันธิน. 2542. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนน้ำจืดในประเทศไทย (ไซยาโนไฟตา คลาโดเซรา และโคพีโพดา). ใน: รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT Work Press Printing กรุงเทพฯ. หน้า 88-92 (BRT 140027).

มะลิ บุญยรัตผลิน, อนันต์ ตันสุตะพานิช, ศุภชัย สัมมาวุฒิ และทรงพรรณ ล้ำเลิศเดชา. 2530. การศึกษาเกี่ยวกับชีวประวัติและการเพาะเลี้ยงอาร์ทีเมียน้ำจืด. กรมประมง, กรุงเทพฯ. หน้า 10

ละออศรี เสนาะเมือง. 2530. ตัวเล็กในบึงใหญ่. ว.วิทย.มข. 15: 25-30.

ละออศรี เสนาะเมือง. 2537. การศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของแพลงก์ตอนสัตว์ในเขตจังหวัดขอนแก่นและกาฬสินธุ์. รายงานการวิจัย กองทุนพัฒนาและส่งเสริมด้านวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ละออศรี เสนาะเมือง. 2541ก. ไรน้ำนางฟ้าสิรินธร. วารสารวิจัย มข. 3 (2): 1-6.

ละออศรี เสนาะเมือง. 2541ข. ไรน้ำนางฟ้าสิรินธร...ไรน้ำพันธุ์ใหม่ของโลก. วารสารสถาบันอาหาร 2(7): 46-47.

ละออศรี เสนาะเมือง และพิพัฒน์พงษ์ แคนลา. 2541. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนน้ำจืดในประเทศไทย (โรติเฟรา). ใน: รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT Work Press Printing กรุงเทพฯ. หน้า 1-4 (BRT 140028).

ละออศรี เสนาะเมือง และพิพัฒน์พงษ์ แคนลา. 2543. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนน้ำจืดในประเทศไทย (โรติเฟรา) เฟส 2. รายงานผลการวิจัยเสนอต่อโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT 142011).

ละออศรี เสนาะเมือง, นิวัฒ เสนาะเมือง, นุกูล แสงพันธุ์ และราเมศ ชูสิงห์. 2543. ความหลากชนิดและการแพร่กระจายของไรน้ำนางฟ้าในประเทศไทย. รายงานการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการ BRT (BRT 142017).

วีระ ยินดี. 2544. ความหลากชนิดและการแพร่กระจายของโคปีปอดในเขตจังหวัดสุรินทร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (BRT 541084).

วิราวรรณ โคตรทิพย์. 2544. ความหลากชนิดและการแพร่กระจายของโรติเฟอร์ในป่าบุ่งป่าทามบริเวณลุ่มน้ำมูล. รายงานความก้าวหน้าวิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (BRT 543055).

ศุจิภรณ์ อธิบาย. 2544. ความหลากชนิดและการแพร่กระจายของไรน้ำนางฟ้าในเขตจังหวัดขอนแก่นและอุดรธานี. รายงานความก้าวหน้าวิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (BRT 542029).

ศิริชัย ไฝทาคำ. 2544. ความหลากชนิดและการแพร่กระจายของคลาโดเซอราและโคปีปอดในป่าบุ่งป่าทามบริเวณลุ่มน้ำมูล. รายงานความก้าวหน้าวิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (BRT 543056).

สุคนธ์ทิพย์ เศวตนลินทล. 2542. ความหลากหลายของโรติเฟอร์ในเขตจังหวัดนครราชสีมา. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (BRT 539022).

สุเปญญา จิตตพันธ์, พรศิลป์ ผลพันธิน และละออศรี เสนาะเมือง. 2542. การจำแนกชนิดของโรติเฟอร์ในเขตพื้นที่ป่าพรุ ภาคใต้ของประเทศไทย. ใน: รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT Work Press Printing กรุงเทพฯ. หน้า 5-9 (BRT 541051).

สุพัสตรา เหล็กจาน. 2544. ความหลากชนิดและการแพร่กระจายของไรน้ำนางฟ้าในเขตจังหวัดมหาสารคามและร้อยเอ็ด. รายงานความก้าวหน้าวิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยขอนแก่น (BRT 542030).

สำรวย เสร็จกิจ. 2532. อาร์ทีเมียน้ำจืด. เคหการเกษตร 13: 86-88.

Belk, D. and J. Brtek. 1995. Checklist of the Anostraca. *Hydrobiologia* 298: 315-353.

Belk, D. and C. E. Esparza. 1995. Anostraca of the Indian subcontinent. *Hydrobiologia* 298: 287-293.

Berzins, B. 1978. Rotatoria. *In* J. Illies (ed.), Limnofauna Europaea. 2nd ed. Fisher, Stuttgart. pp. 54-91.

Boonsom, J. 1984. The freshwater zooplankton of Thailand (Rotifera and Crustacea). *Hydrobiologia* 113: 223-229.

Brendonck, L. 1995. An updated diagnosis of the branchiopodid genera (Branchiopoda: Anostraca: Branchiopodidae) with reflections on the genus concept by Dubois (1988) and the importance of genital morphology in anostracan taxonomy. *Arch. Hydrobiol./Suppl*. 107: 149-186.

Brendonck, L. and D. Belk. 1997. *Branchinella maduraiensis* Raj (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca) shown by new evidence to be a valid species. *Hydrobiologia* 359: 93-99.

Brendonck, L., M. Hamer and A. Thiery. 1992. Occurrence of tetrahedral eggs in the Streptocephalidae Daday (Branchiopoda: Anostraca) with descriptions of a new subgenus, *Parastreptocephalus*, and a new species *Streptocephalus (Parastreptocephalus) zuluensis* Brendonck and Hamer. *Journal of Crustacean Biology* 12: 282-297.

Chengalath, R. and W. Koste. 1983. Rotifera from northeastern Quebec, Newfoundland and Labrador, Canada. *Hydrobiologia* 104: 49-56.

Chiang, S. C. and N. S. Du. 1978. Freshwater Cladocera. Fauna Sinica 9, Curstacea. Academia Sinica, Science Press, Peking, pp. 297.

Chittapun, S. and P. Pholpunthin. 2001. The rotifer fauna of peat-swamps in Southern Thailand. *Hydrobiologia*, in press.

Chittapun, S., P. Pholpunthin and H. Segers. 1999. Rotifera from peat-swamps in Phuket Province, Thailand, with the description of a new *Colurella* Bory De St. Vincent. *Internat. Rev. Hydrobiol*. 84: 587-593.

Clement, P. and E. Wurdak. 1991. Rotifera, *In* Microscopic Anatomy of Invertebrates, Volume 4: Aschelminthes. pp. 219-297.

De Ridder, M.1970. Raderdieren uit het verre Oosten. Biol. Jaarboek. *Dodonaea* 39: 361-391.

De Ridder, M. 1987. Distribution of rotifers in African fresh and inland saline waters. *Hydrobiologia* 85: 209-225.

Dodson, S. I. and D. G. Frey. 1991. Cladocera and Other Branchiopoda. *In* Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. pp. 723-786. Academic Press Inc.

Dumont, H. J. and Y. R. Reddy. 1993. A reappraisal of the genus *Phyllodiaptomus* Kiefer, 1936, with the description of *P. wellekensae* n. sp. from India, and a redescription of *P. tunguidus* Shen and Tai, 1964 from China (Copepoda, Calanoida) from Thailand. *Hydrobiologia* 263: 65-93.

Dumont, H. J. and Y. R. Reddy. 1994. *Phyllodiaptomus predictus* n. sp. (Copepoda, Calanoida) from Thailand. *Hydrobiologia* 273: 101-110.

Dumont, H. J., Y. R. Reddy and L. Sanoamuang, 1996. Description of *Phyllodiaptomus christineae* n. sp. from Thailand, and distinction of two subgenera within *Phyllodiaptomus* Kiefer, 1936 (Copepoda, Calanoida). *Hydrobiologia* 323: 139-148.

Flossner, D. 1972. Kiemen und Blattfusser, Brachiopoda. Fischlause, Branchiura. Teirwelt Dtl., pp. 60, 501.

Geddes, M. 1981. Revision of Australian species of *Branchinella* (Crustacea: Anostraca). Aust. J. Mar. Freshwat. Res. 32: 253-295.

Hirayama, K. 1987. A consideration of why mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* with baker's yeast is unstable. *Hydrobiologia* 147: 269-270.

Idris, B. A. G. 1983. Freshwater zooplankton of Malaysia (Crustacea: Cladocera). Penerbit Universiti Pertanian Malaysia, pp. 153.

Jose de Paggi, S. and W. Koste. 1984. Checklist of the rotifers recorded from Antarctic and Subantarctic areas. *Senckenbergiana Biol.* 65: 169-178.

Korovchinsky, N. M. 1992. Sididae and Holopediidae (Crustacea: Daphniiformes). Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World 3. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands. pp. 82.

Korovchinsky, N. M. 1993. Introduction to the Cladocera (Daphniiformes, Polyphemiformis and Leptodoriformes). International Training Course: Lake Zooplankton, a tool in Lake Management Guide, University of Ghent, Belgium. pp. 219.

Korovchinsky, N. M. 1996. How many species of Cladocera are there? *Hydrobiologia* 321: 191-204.

Koste, W. 1975. Über den Rotatorienbestand einer Mikrobiozönose in einem tropischen aquatischen Saumbiotop, der *Eichhornia-crassipes*-Zone im Litoral des Bung-Borapet, einem Stausee in Zentralthailand. Gewäss. Abwäss. 57/58: 43-58.

Koste, W. 1978. Rotatoria. Die Radertiere Mitteleuropas. Ein Bestimmungswerk begr. von Max Voigt. berordnung Monogononta. Vol. 1-2. pp. 673. + 234 pl.

Koste, W. and R. J. Shiel. 1987. Rotifera from Australian Inland Waters. II. Epiphanidae and Brachionidae (Rotifera: Monogononta). Invertebr. Taxon. 7: 949-1021.

Koste, W. and R. J. Shiel. 1989a. Rotifera from Australian inland waters. III. Euchlanidae, Mytilinidae and

Trichotriidae. Trans. R. Soc. S. Aust. 113: 85-114.
Koste, W. and R. J. Shiel. 1989b. Rotifera from Australian inland waters. IV. Colurellidae and Lecanidae. *Trans. R. Soc. S. Aust.* 113: 119-147.
Koste, W. and R. J. Shiel. 1990a. Rotifera from Australian Inland Waters. V. Lecanidae (Rotifera: Monogononta). *Trans. r. Soc. S. Aust.* 114: 1-36.
Koste, W. and R. J. Shiel. 1990b. Rotifera from Australian Inland Waters. VI. Proalidae, Lindiidae (Rotifera: Monogononta). *Trans. r. Soc. S. Aust.* 114: 129-143.
Koste, W. and R. J. Shiel. 1991. Rotifera from Australian Inland Waters. VII. Notommatidae (Rotifera: Monogononta). *Trans. r. Soc. S. Aust.* 115: 111-159.
Lai, H. C. and C. H. Fernando. 1978. The freshwater Calanoida (Crustacea: Copepoda) of Singapore and Peninsular Malaysia. *Hydrobiologia* 61: 113-127.
Lai, H. C. and C. H. Fernando. 1981. The freshwater Calanoida (Crustacea: Copepoda) of Thailand. *Hydrobiologia* 76: 161-178.
Lim, R. P. and C. H. Fernando. 1985. A review of Malaysian freshwater Copepoda with notes on new records and Little known species. *Hydrobiologia* 128: 71-89.
Maas, S. 1993. Introduction to the Cepepoda. International Training Course: Lake Zooplankton, a tool in Lake Management Guide, University of Ghent, Belgium. pp. 218.
Maeda-Martinez, A., D. Belk, H. Obregon-Barboza and H.J. Dumont. 1995a. Diagnosis and phylogeny of the New World Streptocephalidae (Branchiopoda: Anostraca). *Hydrobiologia* 298: 15-44.
Maeda-Martinez, A., D. Belk, H. Obregon-Barboza and H.J. Dumont. 1995b. A contribution to the systematics of the Streptocephalidae (Branchiopoda : Anostraca). *Hydrobiologia* 298: 203-232.
Mamaril, A. C. and C. H. Fernando. 1978. Freshwater zooplankton of the Philippines (Rotifera, Cladocera, and Coprpoda). *Natural and Applied Science Bulletin* 30: 109-221.
Manuilova, E. F. 1964. Cladocera. Fauny USSR. Fauna of the USSR, 88, Nauka, Leningrad, pp. 326.
Margaritora, F. G. 1985. Cladocera. Fauna d' Italia 23. Ed. Calderini, Bologna. pp. 399.
Nogrady, T. 1993. Rotifera. Volume 1: Biology, Ecology and Systematics. Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World No. 4. SPB Academic Publishing bv, The Hague.
Pejler, B. 1983. Zooplanktic indicators of trophy and their food. *Hydrobiologia* 101: 111-114.
Pennak, R. W. 1989. Fresh-water invertebrates of the United States. 3rd ed. John Wileys and Sons, New York.
Pholpunthin, P. 1997. Freshwater zooplankton (Rotifera, Cladocera and Copepoda) from Thale-Noi, South Thailand. *J. Sci. Soc. Thailand* 23: 23-34.
Reddy, Y. R. 1994. Copepoda: Calanoida: Diaptomidae, Key to the genera *Heliodiaptomus, Allodiaptomus, Neodiaptomus, Phyllodiatomus, Eodiaptomus, Arctodiaptomus and Sinodiaptomus.* Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World 5. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands. pp. 221.
Reddy, Y. R. & H. J. Dumont, 1998. A review of the genus *Eodiaptomus* Kiefer, 1932, with the description of *E. sanoamuangae* n.sp. from Thailand, and a redescription of *E. lumholtzi* (Sars, 1889) from Australia (Copepoda, Calanoida). *Hydrobiologia* 361: 169-189.
Reddy, Y. R., L. Sanoamuang and H. J. Dumont, 1998. A note on the Diaptomidae of Thailand, including redescription of three species and description of a new species (Copepoda, Calanoida). *Hydrobiologia* 361: 201-223.
Reddy, Y. R., L. Sanoamuang & H. J. Dumont, 2000. Amended delimitation of *Mongolodiaptomus* against *Neodiaptomus* and *Allodiaptomus* and redescription of the little known *Mongolodiaptomus uenoi* (Kikuchi, 1936) from Thailand (Copepoda: Calanoida: Diaptomidae). *Hydrobiologia* 418: 99-109.
Ruttner-Kolisko, A. 1974. Plankton rotifers: biology and taxonomy. *Die Biennengewasser* (Supplement) 26:1-146.
Saengphan, N. and L. Sanoamuang. 2001. *Streptocephalus siamensis* n. sp., a new species of fairy shrimp (Crustacea, Anostraca) with tetrahedral eggs from central Thailand. Crustaceana, in press.
Sanoamuang, L. 1993. Comparative studies on scanning electron microscopy of trophi of the genus *Filinia* Bory De St. Vincent (Rotifera). *Hydrobiologia* 264: 115-128.
Sanoamuang, L. 1996. *Lecane segersi* n. sp. (Rotifera, Lecanidae) from Thailand. *Hydrobiologia* 329: 23-25.
Sanoamuang, L. 1998a. Contributions to the knowledge of the Cladocera of north-east Thailand. *Hydrobiologia* 362: 45-53.
Sanoamuang, L. 1998b. Rotifera of some freshwater habitats in the floodplain of the River Nan, northern Thailand. *Hydrobiologia* 387/388: 27-33.
Sanoamuang, L. 1999. Species composition and distribution of freshwater Calanoida and Cyclopoida (Copepoda) of north-east Thailand. *In* Crustaceans and Biodiversity Crisis (F. R. Schram and J. C. V. Klein, eds.), Brill Academic Publishers, Leiden, vol. I: 217-230.
Sanoamuang, L. 2001a. *Eodiaptomus phuphanensis* n. sp., a new freshwater copepod (Calanoida: Diaptomidae) from the Phuphan National Park, Thailand. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 86: 219-228.
Sanoamuang, L. 2001b. *Mongolodiaptomus dumonti* n. sp., a new freshwater copepod (Calanoida, Diaptomidae) from Thailand. *Hydrobiologia*, in press.
Sanoamuang, L. 2001c. Distributions of three *Eodiaptomus* species (Copepoda: Calanoida) in Thailand, with a redescription of *E. draconisignivomi* Brehm, 1952. *Hydrobiologia*, in press.
Sanoamuang, L. 2001d. *Filinia*. *In* T. Nogrady and H. Segers (eds.), Rotifera 6. Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World (ed. H.J. Dumont). Backhuys, Leiden.
Sanoamuang, L. and S. Athibai. 2001. The Calanoid copepods of temporary ponds in Thailand, with a description of a

new *Heliodiaptomus.* International Review of Hydrobiology.
Sanoamuang, L. & W. Kotethip, 2001. A new species of *Brachionus* (Rotifera) from riverine swamps of northeast Thailand. Annls Limnol., in press.
Sanoamuang, L. and J. C. McKenzie. 1993. A simplified method for preparing rotifer trophi for scanning electron microscopy. *Hydrobiologia* 250: 91-95.
Sanoamuang, L. and S. Savatenalinton. 1999. New records of rotifers from Nakhon Ratchasima province, north-east Thailand, with a description of *Lecane baimaii* n. sp. *Hydrobiologia* 412: 95-101.
Sanoamuang, L. and S. Savatenalinton. 2001. The rotifer fauna of Lake Kud-Thing, a shallow lake in Nong Khai Province, northeast Thailand. *Hydrobiologia*, in press.
Sanoamuang, L. and H. Segers. 1997. Additions to the *Lecane* fauna (Rotifera: Monogononta) of Thailand. *Int. revue ges. Hydrobiol*. 82: 525-530.
Sanoamuang, L. & H. Segers, 2001. Notes on some new and little known Rotifera from Thailand. Annls Limnol., in press.
Sanoamuang, L. and V. M. Stout. 1993. New records of rotifers from the South Island lakes, New Zealand. *Hydrobiologia* 255/256: 481-490.
Sanoamuang, L. and W. Yindee. 2001. A new species of *Phyllodiaptomus* (Copepoda, Diaptomidae) from northeast Thailand. *Crustaceana* 74: 435-448.
Sanoamuang, L., Saengaroon, C. and Kotethip, W. 2001a. The Cladocera of Lake Kud-Thing, a shallow lake in Nong Khai Province, northeast Thailand. *Internat. Rev. Hydrobiol*, in press.
Sanoamuang, L., N. Saengphan and G. Murugan. 2001b. First record of the genus *Branchinella*, (Crustacea, Anostraca) from Southeast Asia. *Hydrobiologia*, in press.
Sanoamuang, L., H. Segers and H. J. Dumont, 1995. Additions to the rotifer fauna of south-east Asia: new and rare species from north-east Thailand. *Hydrobiologia* 313/314: 35-45.
Sanoamuang, L., G. Murugan, P. H. H. Weekers and H. J. Dumont. 2000. *Streptocephalus sirindhornae*, new species of freshwater fairy shrimp (Anostraca) from Thailand. *Journal of Crustacean Biology* 20: 559-565.
Scourfield, D. J. and J. P. Harding. 1966. A key to the British species of freshwater Cladocera. Freshwat. Biol. Assoc. Sci. Publ. pp. 5, 55.
Segers, H. 1995a. Rotifera. Vol 2: The Lecanidae (Monogononta). Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World 6. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands. pp. 226.
Segers, H. and P. Pholpunthin,.1997. New and rare Rotifera from Thale-Noi Lake, Pattalung Province, Thailand, with a note on the taxonomy of Cephalodella (Notommatidae). *Annls Limnol.* 33: 13-21.
Segers, H. and L. Sanoamuang. 1994. Two more new species of *Lecane* (Rotifera, Monogononta) from Thailand. *Belg. J. Zool*. 124: 39-46.
Segers, H., S. S. S. Sarma, F. K. Kakkassery and C. K. G. Nayar. 1994. New records of Rotifera from India. *Hydrobiologia* 287: 251-258.
Shiel, R. J. 1995. A guide to identification of rotifers, cladocerans and copepods from Australian inland waters. Co-operative Research Centre for Freshwater Ecology, Identification No. 3, Murray-Darling Freshwater Research Centre, Albury, Australia. pp. 144.
Shiel, R. J. and W. Koste. 1992. Rotifera from Australian Inland Waters, VIII. Trichocercidae (Monogononta). *Trans. R. Soc. Aust.* 116: 1-27.
Shiel, R. J. and W. Koste. 1993. Rotifera from Australian Inland Waters, IX. Gastropodidae, Synchaetidae, Asplanchnidae (Rotifera: Monogononta). *Trans. R. Soc. Aust.* 117: 111-139.
Shiel, R. J. and L. Sanoamuang. 1993. Trans-Tasman variation in Australasian *Filinia* populations. *Hydrobiologia* 255/256: 455-462.
Smirnov, N. N. 1992. The Marcothricidae of the world. Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World 1. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands. pp. 143.
Smirnov, N. N. and B. V. Timms. 1983. A revision of the Australian Cladocera. (Crustacea). Rec. Aust. Mus. Suppl. 1: 1-132.
Ueno, M. 1966. Freshwater zooplankton of Southeast Asia. *S. E. Asian Study* 3: 94-109.
Vaas, K.J. 1952. Merkwaardige lagere kreeften. *Tropische Natuur* 32: 131-133. (in Dutch).
Wallace, R. L. and T. W. Snell. 1991. Rotifera. *In* Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. pp. 187-248. Academic Press, Inc.
Williamson, C. E. 1991. Copepoda. *In* Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. pp. 787-822. Academic Press, Inc.

# ความหลากหลายทางชีวภาพของไดอะตอมพื้นท้องน้ำและสาหร่ายขนาดใหญ่ ในลำน้ำแม่สาอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่

**ยุวดี พีรพรพิศาล, สมร คลื่นสุวรรณ, ฉมาภรณ์ นิวาศะบุตร, กนกพร กวีวัฒน์, สาคร พรหมขัติแก้ว, ตรัย เป็กทอง, ประเสริฐ ไวยะกา และทัตพร คุณประดิษฐ์**

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง เชียงใหม่ 50202

**Abstract: Biodiversity of Benthic Diatoms and Macroalgae in Mae Sa Stream, Doi Suthep-Pui National Park, Chiang Mai**

The biodiversity of benthic diatoms and macroalgae was investigated in Mae Sa stream, Doi Suthep-Pui national park, Chiang Mai province from April 1997 to March 2000. The most diverse group of organisms were benthic diatoms; 244 species were encoutered. Sixty six species of these had never been recorded in Thailand before. A total of 75 species of macroalgae were found and eighteen of these were new records for Thailand. The prominent benthic diatoms were in the Order Pennales, *e.g*., *Navicula* spp., *Nitzschia* spp., *Fragilaria* spp. and *Gomphonema* spp. The macroalgae were *Cladophora glomerata* Kützing and *Spirogyra* spp. in the Division Chlorophyta. The organisms which could be used as indicators the quality of water were the red macroalgae such as *Batrachospermum macrosporum* Montague, *Batrachospermum vugum* Agardh and *Nemalionopsis shawii* Skuja. They indicate oligotrophic status. In addition, these three red macroalgal species were new records for Thailand. Benthic diatoms that indicated eutrophication and high organic pollution were *Gomphonema parvulum* (Kützing) Grunow and *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith.

**Key words:** Mae Sa stream, benthic algae, diatom, benthic diatom, macroalgae, eutrophication

## บทนำ

สาหร่ายเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีการศึกษากันน้อยมากในประเทศไทย โดยเฉพาะไดอะตอมพื้นท้องน้ำ และสาหร่ายขนาดใหญ่ในระบบนิเวศน้ำไหลแบบน้ำจืดนั้น ในอดีตแทบจะไม่มีการวิจัยเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตดังกล่าว ทั้งที่สิ่งมีชีวิตเหล่านี้พบเห็นกันทั่วไป จากรายงานของประเทศแถบตะวันตกที่มีลักษณะภูมิอากาศเป็นแบบเขตอบอุ่น พบว่ามีการใช้สาหร่าย 2 กลุ่ม คือ ไดอะตอมพื้นท้องน้ำ และสาหร่ายขนาดใหญ่ เป็นตัวบ่งบอกถึงคุณภาพของน้ำได้ดีพอสมควร เช่น Round (1973) รายงานว่า *Oscillatoria* spp. หลายสปีชีส์ เป็นสาหร่ายขนาดใหญ่ที่บ่งบอกน้ำเสีย เช่นเดียวกับไดอะตอมพื้นท้องน้ำ *Nitzschia* spp. และ *Gomphonema* spp. ในขณะที่ไดอะตอมพื้นท้องน้ำ *Navicula* spp. และสาหร่ายขนาดใหญ่ *Cladophora* spp. บ่งบอกน้ำที่มีคุณภาพปานกลาง และสาหร่ายสีแดงหลายชนิด เช่น *Batrachospermum* spp. และ *Lemanea* spp. บ่งบอกคุณภาพน้ำดี เช่นเดียวกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินน้อยประเภทนักที่บ่งบอกน้ำดี ได้แก่ *Calothrix* spp. และ *Chamaesiphon* spp. เป็นต้น รวมทั้งไดอะตอมพื้นท้องน้ำ *Cyclotella* spp. และ *Cocconeis* spp. อีกหลายสปีชีส์ด้วย ซึ่งในประเทศไทยที่มีลักษณะภูมิอากาศแบบเขตร้อน การศึกษาทางด้านการใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำนั้น ยังไม่เกิดขึ้นอย่างจริงจังและเป็นระบบ การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของไดอะตอมพื้นท้องน้ำ และสาหร่ายขนาดใหญ่ในระบบนิเวศน้ำไหล จึงควรมีการศึกษาอย่างจริงจังและต่อเนื่อง

สาหร่าย เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีการปรับตัวตามสภาพแวดล้อมได้ดีมาก มีรูปร่าง และโครงสร้างแตกต่างกัน ตั้งแต่ขนาดเซลล์เดียว จนเป็นทัลลัสขนาดใหญ่ สาหร่ายมีความหลากหลายทางชีวภาพสูงมาก (ยุวดี, 2542) เป็นผู้ผลิตออกซิเจนให้กับสิ่งแวดล้อม ที่พักอาศัยหลบซ่อนศัตรู แหล่งอาหาร แหล่งวางไข่ และอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน บางชนิดสามารถนำมาสกัดสารที่สำคัญหลายชนิดเพื่อใช้ในอุตสาหกรรม อาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และยา เช่น Agar, Alginate, Diatomite และ Carageenan (วิสุทธิ์, 2538) การนำสาหร่ายสีเขียว *Spirogyra* มีชื่อ เทา หรือเตา และ *Cladophora* หรือไก มาประกอบอาหารโดยนำมาทำเป็นยำ ข้าวเกรียบ สาหร่ายแห้งปรุงรส น้ำพริกสาหร่าย เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการนำเอาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Nostochopsis* หรือที่เรียกว่าลอน หรือดอกหิน มาทำเป็นอาหาร และนำมาใช้เป็นสมุนไพรแก้ร้อนใน เป็นการนำเอาทรัพยากรพื้นบ้านมาใช้ให้เกิดประโยชน์ และมีคุณค่า (ยุวดี, 2544)

Foged (1971) ได้เก็บตัวอย่างไดอะตอมจากแม่น้ำในภาคกลาง บริเวณกรุงเทพฯ และในเขตภาคเหนือบริเวณจังหวัดเชียงใหม่ ในปี พ.ศ.2509 พบไดอะตอมทั้งหมด 378 สปีชีส์ พบสปีชีส์ใหม่ 8 สปีชีส์ และพบ form ใหม่ 2 forms Benovides (1994) ศึกษาความหลากหลายของไดอะตอมในแม่น้ำ 2 สายในประเทศ Costa Rica คือ Rio Grand de Tarcoles basin ซึ่งเป็นแม่น้ำที่มีมลพิษสูง และ Savegre basin ซึ่งเป็นแม่น้ำสายที่ไม่มีมลพิษปนเปื้อน พบไดอะตอมทั้งหมด 125 สปีชีส์ ชนิดที่พบมากในแม่น้ำ Rio Grand de Tarcoles basin คือ *Navicula goeppertiana, Gomphonema parvulum* และ *Nitzschia palea* เป็นต้น ซึ่งเป็นชนิดที่มีความทนทานสูงต่อสภาพมลพิษที่เป็นสารอินทรีย์ หรือสภาพ eutrophic ชนิดที่พบมากในแม่น้ำ Savegre basin คือ *Achnanthes minutissima, Cymbella sinuata* และ *Cocconeis placentula* เป็นต้น ซึ่งเป็นชนิดที่พบในน้ำสะอาด มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ และไม่มีสภาพที่ไม่มีมลพิษ

การศึกษาสาหร่ายขนาดใหญ่มีไม่มากนัก Entwisle (1989) ศึกษาสาหร่ายขนาดใหญ่ในแม่น้ำ Yarra basin ในประเทศออสเตรเลีย พบสาหร่ายขนาดใหญ่ 43 สปีชีส์ โดยพบสาหร่ายสีเขียว 55% สาหร่ายสีแดง 18% สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 14% และสาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง 13% รวมทั้งพบว่าการกระจาย และการแทนที่ของสาหร่ายขนาดใหญ่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง แสง และปริมาณสารอาหาร สาหร่ายขนาดใหญ่ชนิดเด่น คือ *Cladophora glomerata* และ *Stigeoclonium tennue* นอกจากนี้ Sheath and Kathleen (1992) ยังได้ทำการศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายสีแดงใน Florida Spring Fresh Stream ในมลรัฐ Florida โดยพบสาหร่ายสีแดง 3 ชนิด ได้แก่ *Audoninella violacea, Compsopogon coeruleus* และ *Thorea ramosisima*

ในด้านการใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำนั้น ทั้งไดอะตอมพื้นท้องน้ำและสาหร่ายขนาดใหญ่ สามารถใช้เป็นดัชนีทางชีวภาพสำหรับแหล่งน้ำที่เป็นน้ำไหลได้อย่างดี เช่น Pfister (1992) ทำการศึกษาไดอะตอมพื้นท้องน้ำจากลำธารตามธรรมชาติที่ไหลเร็วบริเวณเทือกเขาแอลป์ ในแคว้น Tyrol ประเทศออสเตรีย ไดอะตอมที่พบส่วนใหญ่เป็นกลุ่มที่อยู่ในแหล่งน้ำที่มีระดับสารอาหารต่ำ น้ำมีคุณภาพดี ได้แก่ *Achnanthes biasolettiana, Achnanthes minutissima, Cymbella delicatula, Diatoma ehrenbergii* และ *Gomphonema angustum* ส่วน Rott (1995) ศึกษาไดอะตอมพื้นท้องน้ำในแม่น้ำ Grand แคว้น Ontario ประเทศแคนาดา ในปี ค.ศ.1994 จากการศึกษาสามารถแบ่งไดอะตอมพื้นท้องน้ำออกเป็น 3 เขต คือ เขตไดอะตอมกลุ่ม oligotrophic flora ซึ่งพบเฉพาะบริเวณน้ำคุณภาพดี โดยพบทั่วไปในลำธารบนภูเขา เขตไดอะตอม กลุ่มที่พบทั่วไปในลำธารที่มีสารอาหารสูงในตอนกลางของลำน้ำ และเขตไดอะตอมกลุ่มที่อยู่ตอนท้ายของลำน้ำใกล้ปากแม่น้ำที่บ่งบอกถึงการมีสารอาหารมาก แสดงว่าน้ำนั้นมีคุณภาพต่ำ โดยพบ *Gomphonema parvulum* var. *parvulum f. saprophilum*, *Navicula* spp. และ *Nitzschia* spp. สำหรับสาหร่ายขนาดใหญ่นั้น Benovides (1994) กล่าวว่า ในแม่น้ำที่เกิดมลพิษจะพบสาหร่ายขนาดใหญ่ในดิวิชัน Cyanophyta ได้แก่ *Plectonema* spp., *Pleurocapsa* spp. และ *Oscillatoria* spp. เป็นสปีชีส์เด่น นอกจากนี้ สาหร่ายขนาดใหญ่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว เช่น *Stigeoclonium lubricum* และ *Stigeoclonium tennue* พบได้บ่อยในแหล่งน้ำที่มีลักษณะเป็น eutrophic (Palmer, 1970) บางชนิดจะพบได้ทั่วไป เช่น *Cladophora* spp. สามารถพบในแหล่งน้ำที่สภาพน้ำค่อนข้างดีจนถึงน้ำเสีย (Entwisle, 1989) แต่สามารถนำไปใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สภาพน้ำที่ถูกปนเปื้อนได้ โดย *Cladophora* spp. สามารถสะสมสารพวก organometallic complex ใน neutrallipid (Whitton et al., 1989)

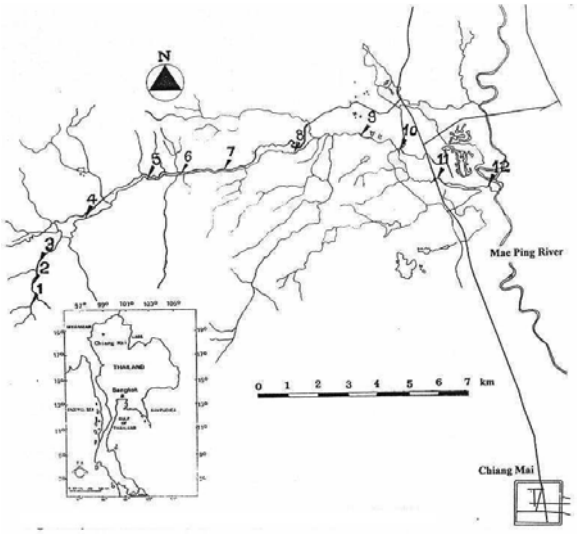
ส่วนสาหร่ายขนาดใหญ่ที่พบในน้ำที่มีคุณภาพดี ได้แก่ สาหร่ายสีแดง ซึ่งเป็นสาหร่ายที่พบได้น้อยมากในน้ำจืด (Sheath, 1984) เช่น *Batrachospermum* spp. และ *Nemalionopsis* spp. ซึ่ง Palmer (1970) รายงานว่าพบได้ในแหล่งน้ำสะอาดมากเท่านั้น นอกจากนี้บัญญัติ (2532) รายงานว่า *Batrachospermum* spp. และ *Lemanea* spp. จะสามารถเจริญได้ดีในน้ำสะอาดที่มีออกซิเจนมาก และสารอาหารต่ำ สาหร่ายสีแดงอีกชนิดหนึ่งคือ *Compsopogon coeruleus* สามารถพบได้ในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารไม่สูงนัก (Necchi and Pascoaloto, 1995) ส่วนสาหร่ายขนาดใหญ่ดิวิชัน Chlorophyta ที่พบในน้ำสะอาด ได้แก่ *Microspora* spp. ซึ่งจะพบในน้ำที่มีสารอาหารไม่สูงมากนัก (Entwisle, 1989)

สาหร่ายยังมีคุณสมบัติพิเศษที่ช่วยลดมลภาวะของแหล่งน้ำให้ดีขึ้น สามารถนำมาใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย เช่นที่พบในรายงานของ Ahuja et al. (1999) มีการใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria angistissma* ในการดูดซับอิออนสังกะสีในน้ำทิ้งอุตสาหกรรมเหมืองแร่ได้สูงถึง 641 $mgl^{-1}$ น้ำหนักแห้ง

ส่วนประโยชน์ทางด้านการแพทย์ สาหร่ายบางชนิดสามารถใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ รวมทั้งยาปฏิชีวนะที่มาจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีแดง และจากไดอะตอมบางชนิด ดังในรายงานของ Patterson and Bolis (1993) ได้รายงานว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Scytonema ocellatum* สามารถนำมาสกัดสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งเชื้อรา (antifungal) ที่มีชื่อเรียกว่า scytophycin ได้ ต่อมา Patterson et al. (1996) สามารถสกัดสารชนิดเดียวกันนี้ได้จาก *Scytonema burmanicum* โดยทำหน้าที่เป็นสารต้านมะเร็งได้อีกด้วย นอกจากนี้สาหร่ายสีแดง *Digenia simplex* ใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ หรือแก้โรคตาลขโมย และใช้ไดอะตอม *Nitzschia* spp. เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้ นอกจากนี้ ในงานวิจัยของ Dey et al. (2000) และ Scheaffer and Krylou (2000) พบว่าสามารถสกัดสาร Cyanovirin ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเชื้อ HIV ที่ก่อให้เกิดโรคเอดส์ได้ ซึ่งนับว่าเป็นงานวิจัยที่จะเป็นประโยชน์ต่อมนุษยชาติในอนาคต

## วิธีการ

ลำน้ำที่เลือกในการศึกษาครั้งนี้ คือ ลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ เป็นแม่น้ำสำคัญสาขาหนึ่งของแม่น้ำปิง มีขนาดประมาณ 125 ตารางกิโลเมตร เหมาะสมสำหรับการศึกษาระบบนิเวศของสิ่งมีชีวิตในน้ำครบถ้วน เช่น ลักษณะพื้นท้องน้ำ (substrate) แตกต่างกันอย่างมาก ทั้งที่เป็นก้อนหิน กรวด และทราย ทั้งขนาดใหญ่ และเล็ก มีสภาพดิน และโคลนในบางช่วงซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 300-1,200 เมตร ทำให้มีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต เป็นพื้นที่รับน้ำจากหลายแหล่ง เช่น ห้วยแม่สาน้อย และเป็นที่ตั้งของหมู่บ้านชาวเขาเผ่ามังที่มีอาชีพเกษตรกรรม จึงมีการตัดไม้และใช้ปุ๋ยรวมทั้งยาฆ่าแมลงอย่างไม่มีการควบคุม สารเคมีเหล่านี้จะถูกฝนชะลงสู่แหล่งน้ำ และมีผลต่อสิ่งมีชีวิตในลำน้ำเป็นอย่างมาก สิ่งมีชีวิตแรกๆ ที่จะได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำ คือ กลุ่มของสาหร่ายหลายชนิดที่เจริญอยู่ในน้ำนั้นนั่นเอง วิธีการศึกษาทำโดยเลือกจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 12 จุด ตามความสูงจากระดับน้ำทะเล และสิ่งแวดล้อม (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1) ทดสอบคุณภาพน้ำด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพที่จุดเก็บตัวอย่าง และในห้องปฏิบัติการ (APHA, 1992) จากนั้นประเมินชั้นของคุณภาพน้ำ โดยใช้สถิติทางนิเวศวิทยาตามระบบของ Wetzel (1983) และ Lorraine and Vollenweider (1981) ศึกษาและวินิจฉัยระดับสปีชีส์ของไดอะตอมพื้นท้องน้ำโดยใช้หนังสือ

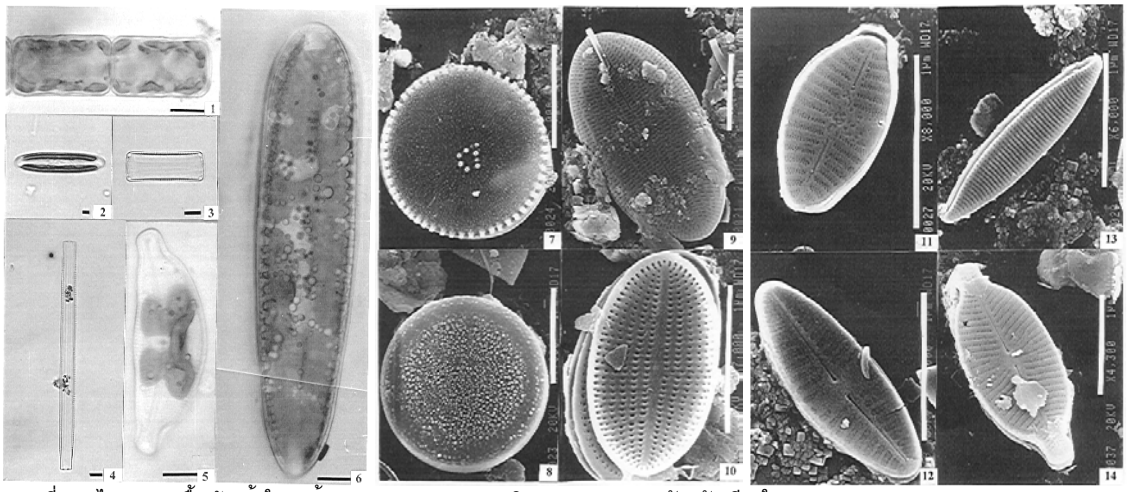


ภาพที่ 1. แสดงจุดเก็บตัวอย่าง (1-12) ในลำน้ำแม่สา

ตารางที่ 1. จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 12 จุด ในลำน้ำแม่สา

| | จุดเก็บตัวอย่างที่ | ระดับความสูงจากน้ำทะเล (m) | การใช้ประโยชน์ที่ดิน |
|---|---|---|---|
| 1. | หมู่บ้านกองแหะ | 1,075 | พื้นที่ต้นน้ำลำธาร |
| 2. | ทางเข้าหมู่บ้านกองแหะ | 1,000 | พื้นที่เกษตรกรรมและชุมชน |
| 3. | ปางช้างโป่งแยง | 960 | สถานที่ท่องเที่ยว |
| 4. | หมู่บ้านศรีม่วงคำ | 760 | พื้นที่เกษตรกรรมและชุมชน |
| 5. | ห้วยดีหมี | 700 | ชุมชน |
| 6. | สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ | 650 | สถานที่ท่องเที่ยว |
| 7. | ปางช้างแม่สา | 550 | สถานที่ท่องเที่ยว |
| 8. | น้ำตกแม่สา | 390 | สถานที่ท่องเที่ยว |
| 9. | สะพานแม่ริม | 340 | ชุมชน |
| 10. | สะพานชลประทาน | 330 | ชุมชน |
| 11. | บ้านป่าม่วง | 330 | ชุมชน |
| 12. | บ้านแม่สาหลวง | 340 | พื้นที่เกษตรกรรมและชุมชน |

และเอกสารที่เกี่ยวข้อง เช่น Hustedt (1937), Krammer and Lange-Bertalot (1986, 1988, 1991a, 1991b) และ Rott (1995) เป็นต้น และระดับสปีชีส์ของสาหร่ายขนาดใหญ่ใช้หนังสือและเอกสารที่เกี่ยวข้อง เช่น Prescott (1951, 1970), Whitford and Schumacher (1969), Entwisle (1993) และ Sheath (1984)



ภาพที่ 2. ไดอะตอมพื้นท้องน้ำในลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติ ดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ Division Bacillariophyta: 1- *Melosira varians* Agardh, 2- *Pinnularia* spp., 3- *Eunotia* sp., 4- *Fragilaria* sp., 5- *Cymbella tumida* (Brébisson) Van Heurck, 6- *Surirella elegans* Ehrenberg 7- *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell & Hasle; 8- *Melosira varians* Agardh (valve view), 9- *Cocconeis placentula* var. *euglypta* (Ehrenberg) Grunow, 10- *Cocconeis placentula* var. *pseudolineata* Geitler 11- *Achnanthes lanceolata* (Brébisson) Grunow (rapheless valve), 12- *Achnanthes lanceolata* (Brébisson) Grunow (raphae valve), 13- *Nitzschia* sp., 14- *Navicula elginensis* (Gregory) Ralfs var. *elginensis* สเกล = 100 µm.

## บทสรุป

การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของไดอะตอมพื้นท้องน้ำและสาหร่ายขนาดใหญ่ในลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ เริ่มตั้งแต่เดือนเมษายน 2540 ถึง มีนาคม 2543 พบว่าสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายมากที่สุด คือ ไดอะตอมพื้นท้องน้ำโดยพบทั้งหมด 244 สปีชีส์ เป็นชนิดที่พบใหม่ยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย 66 สปีชีส์ (ตารางที่ 2) และพบสาหร่ายขนาดใหญ่ 57 สปีชีส์ เป็นชนิดที่พบใหม่ 31 สปีชีส์ (ตารางที่ 3)

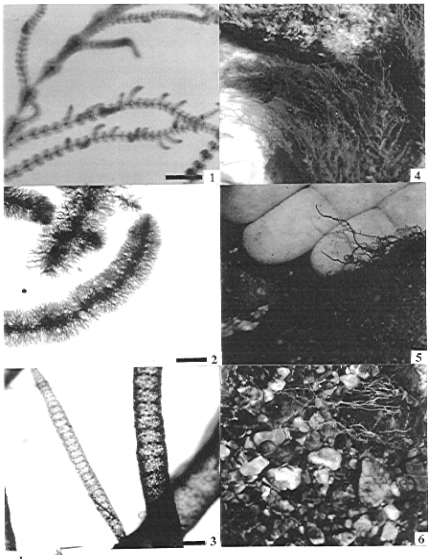
สิ่งมีชีวิตชนิดเด่น (Dominant species) ในกลุ่มไดอะตอมพื้นท้องน้ำ (ภาพที่ 2-5) ได้แก่ ไดอะตอม *Cocconeis placentula* Ehrenberg, *Cymbella tumida* (Brébisson) Van Heurck, *Navicula viridula* (Kützing) Ehrenberg, *Gomphonema parvulum* (Kützing) Kützing, *Synedra ulna* var. *aequalis* (Kützing) Hustedt, *Nitzschia sigmoidae* (Nitzsch) W. Smith, *Gyrosigma scalproides* (Rabenhorst) Cleve และ *Surirella angusta* Kützing ไดอะตอมที่สามารถนำมาเป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพน้ำได้ คือ ไดอะตอมพื้นท้องน้ำที่มีลักษณะเป็น Eutrophic และมีสารอินทรีย์สูง คือ *Gomphonema parvulum* (Kützing) Kützing และ *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith พบในจุดเก็บตัวอย่างที่ 7 คือ ปางช้างแม่สา ซึ่งน้ำมีคุณภาพต่ำ

ไดอะตอมพื้นท้องน้ำที่บ่งบอกว่าน้ำไม่มีมลพิษ และมีปริมาณของไนโตรเจนต่ำ ได้แก่ *Achnanthes minutissima* Kützing ส่วนสปีชีส์ที่ไม่ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม คือ *Cocconeis placentula* Ehrenberg, *Gyrosigma nodiferum* (Grunow) Reimer, *Nitzschia dissipata* (Kützing) Grunow และ *Gomphonema augur* Ehrenberg พบในจุดเก็บตัวอย่างที่ 1 และ 2 ซึ่งมีคุณภาพดีตลอดการวิจัย

ส่วนกลุ่มสาหร่ายขนาดใหญ่ชนิดเด่น (ภาพที่ 5) ได้แก่ *Cladophora glomerata* Kützing และ *Spirogyra* spp. ในดิวิชัน Chlorophyta สาหร่ายขนาดใหญ่ที่สามารถนำมาเป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำได้อย่างเด่นชัด คือ สาหร่ายขนาดใหญ่ในกลุ่มสาหร่ายสีแดง ดิวิชัน Rhodophyta ได้แก่ *Batrachospermum macrosporum* Montague, *Batrachospermum vugum* Agardh และ *Nemalionopsis shawii* Skuja จะบ่งบอกคุณภาพน้ำดีและมีสารอาหารน้อย ดังจะพบได้ในจุดเก็บตัวอย่างที่ 1 ส่วน *Compsopogon coeruleus* (Balbis) Montague จะบ่งบอกคุณภาพน้ำปานกลาง สาหร่ายสีแดงทั้ง 4 ชนิดนี้เป็น

ชนิดที่พบใหม่ในประเทศไทย

งานวิจัยนี้นับว่าเป็นงานวิจัยในระยะแรกๆ เกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ แหล่งน้ำอื่นๆ ของประเทศไทยยังมีสาหร่ายในกลุ่มดังกล่าวอีกมากมาย และความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในแต่ละแหล่งย่อมแตกต่างกันออกไป ดังนั้นจึงควรมีการศึกษากลุ่มสิ่งมีชีวิตดังกล่าวในแหล่งน้ำอื่น ๆ ด้วย ซึ่งคาดหวังว่าเมื่อมีงานวิจัยมากขึ้น และต่อเนื่องก็จะเป็นการสะสมความรู้ทางด้านการวินิจฉัยสาหร่ายกลุ่มดังกล่าว ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ควรนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการทำ Monograph ของไดอะตอมพื้นท้องน้ำ และสาหร่ายขนาดใหญ่ของแหล่งน้ำบนที่สูง ตามรูปแบบสากลนิยมโดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง ประกอบด้วยคำบรรยายลักษณะชนิด เอกสารอ้างอิง และภาพประกอบอย่างชัดเจน รวมทั้งขนาดของเซลล์ แหล่งที่อยู่อาศัย คุณสมบัติของน้ำที่พบชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ เผยแพร่งานวิจัยนี้ไปยังหน่วยงานที่เกี่ยวข้องด้านการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของทรัพยากรชีวภาพ และใช้เป็นคู่มือประกอบการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำต่อไป



ภาพที่ 3. สาหร่ายสีแดง (Division Rhodophyta) ในลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ (1-3 ภาพถ่ายใต้กล้องจุลทรรศน์, 4-6 ภาพถ่ายจากสถานที่จริง) 1,4- *Batrachospermum macrosporum* Montague, 2,5- *Nemalionopsis shawii* Skuja, 3,6- *Compsopogon coeruleus* (Balbis) Montague สเกล = 100 µm.

ตารางที่ 2. ไดอะตอมพื้นท้องน้ำที่พบใหม่ (new records) ในลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่

**DIVISION BACILLARIOPHYTA**
**Order Centrales**
Family Thalassiosiraceae
*Cyclotella stelligera* Cleve & Grunow
*Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell & Hasle
Family Hemidiscaceae
*Actinocyclus normanii* (Gregory) Hustedt
**Order Pennales**
**Family Fragilariaceae**
*Diatoma ehrenbergii* Kützing
*Diatoma moniliformis* Kützing
*Diatoma vulgaris* Bory
*Fragilaria biceps* (Kützing) Lange-Bertalot
*Fragilaria bidens* Heiberg
*Fragilaria elliptica* Schumann
*Fragilaria lanceolata* (Kützing) Reichardt
*Fragilaria ulna* var. *ulna* (Nitzsch) Lange-Bertalot
**Family Eunotiaceae**
*Eunotia bilunaris* (Ehrenberg) Mill var. *bilunaris*
*Eunotia minor* (Kützing) Grunow
Family Achnanthaceae
*Achnanthes chlidanos* Hohn & Hellermann
*Achnanthes exigua* Grunow var. *exigua*
*Achnanthes helvetica* (Hustedt) Lange-Bertalot
*Achnanthes lanceolata* var. *frequentissima* Lange-Bertalot
*Achnanthes lanceolata* var. *haynaldii* (Schaarschmidt) Cleve
*Achnanthes undata* Meister
*Cocconeis placentula* var. *pseudolineata* Geitler
**Family Naviculaceae**
*Amphora coffeaeformis* (Agardh) Kützing
*Amphora dusenii* Brun
*Amphora libyca* Ehrenberg
*Caloneis lauta* Carter & Bailey-Watts
*Caloneis silicula* (Ehrenberg) Cleve
*Cymbella amphicephala* Naegeli
*Cymbella hustedtii* Krasske
*Cymbella silesiaca* Bleisch
*Cymbella sinuata* Gregory
*Cymbella turgidula* Grunow
*Cymbellopsis* sp.
*Frustulia weinholdii* Hustedt
*Gomphonema affine* Kützing
*Gomphonema augur* var. *turris* (Ehrenberg) Lange-Bertalot
*Gomphonema minutum* (Agardh) Agardh
*Gomphonema pumilum* var. *rigidum* E. Reichardt et Lange-Bertalot
*Navicula cohnii* (Hilse) Lange-Bertalot
*Navicula concentrica* Carter
*Navicula cryptotenella* Lange-Bertalot
*Navicula elginensis* (Gregory) Ralfs var. *lginensis*
*Navicula jaagii* Meister
*Navicula laevissima* Kützing var. *laevissima*
*Navicula mutica* Kützing var. *mutica*
*Navicula subplacentula* Hustedt
*Navicula trivialis* Lange-Bertalot
*Neidium ampliatum* (Ehrenberg) Krammer
*Pinnularia rupestris* Hantzsch
*Pinnularia viridiformis* Krammer
*Sellaphora pupula* (Kützing) Mereschkowsky
*Stauroneis producta* Grunow
*Stauroneis resoluta* Moser
**Family Epithemiaceae**
*Rhopalodia gibba* (Ehrenberg) O. Müller var. *gibba*
**Family Bacillariaceae**
*Hantzschia distinctepunctata* (Hustedt) Hustedt
*Nitzschia acula* Hantzsch
*Nitzschia angustatula* Lange-Bertalot
*Nitzschia bremensis* Hustedt
*Nitzschia brevissima* Grunow
*Nitzschia coarctata* Grunow
*Nitzschia dubia* W. Smith
*Nitzschia fonticola* Grunow
*Nitzschia literalis* Grunow
*Nitzschia palustris* Hustedt
**Family Surirellaceae**
*Cymatopleura solea* var. *apiculata* (W. Smith) Ralfs
*Surirella bifrons* Ehrenberg
*Surirella spiraloides* Hustedt
*Surirella splendida* (Ehrenberg) Kützing

ตารางที่ 3. สาหร่ายขนาดใหญ่ที่พบใหม่ (new records) ในลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่

**DIVISION CYANOPHYTA**

**Order Oscillatoriales**

**Family Oscillatoriaceae**

*Lyngbya aeruginosa* Gomont

*Lyngbya retzii* (Agardh)Gomont

*Oscillatoria meslini* Fremmy

*Oscillatoria mucosa* Geitler

**Order Nostocales**

**Family Stigonemataceae**

*Nostochopsis lobatus* (Dillw.)Wood

**DIVISION CHLOROPHYTA**

**Order Chlorococcales**

**Family Palmellaceae**

*Palmella mucosa* Kützing

**Order Tetrasporales**

**Family Tetrasporaceae**

*Tetraspora cylindrica* C.A. Agardh

**Family Gloeocystaceae**

*Gloeocystis ampla* (Kützing)Langerhium

*Gloeocystis echinulata* (J.E.) Smith

*Gloeocystis longiarticulata* G.S. West

**Order Siphonocladales**

**Family Cladophoraceae**

*Cladophora albida* Kützing

*Cladophora glomerata* Kützing

*Cladophora fracta* (Dillw) Kützing

*Cladophora lehmanniana* Kützing

*Rhizoclonium crassipellitum* West & West

**Order Zygnematales**

**Family Zygnemataceae**

*Mougeotia scalaris* Hassall

**Order Oedogoniales**

**Family Oedogoniaceae**

*Oedogonium inclusum* Wittr

*Oedogonium kjallmanii* Prescott

*Oedogonium rivulare* A. Branum

**Order Chaetophorles**

**Family Chaetophoraceae**

*Chaetophora* sp.

*Stigeoclonium flagelliferum* Kützing

*Stigeoclonium lubricum* (Dillw.) Kützing

*Stigeoclonium subsecundum* Kützing

**Order Ulotrichales**

**Family Ulotrichiaceae**

*Ulothrix cylindricum* Prescott

**Family Microsporaceae**

*Microspora floccosa* West & West

*Microspora pachyderma* (Wille) Lagerheim

DIVISION RHODOPHYTA

**Order Nemalionales**

**Family Erythotrichaceae**

*Compsopogon coeruleus* (Balbis) Montague

**Family Batrachospermaceae**

*Batrachospermun macrosporum* Montague

*Batrachospermun vugum* Agardh

**Family Thoreaceae**

*Nemalionopsis shawii* Skuja

**DIVISTION XANTHOPHYTA**

**Order Vaucheriales**

**Family Vaucheriaceae**

*Vaucheria* sp.

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 139015

## เอกสารอ้างอิง

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2532. จุลชีววิทยาทั่วไป. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพ ฯ.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2542. สาหร่าย: ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับสาหร่าย สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่ายสีเขียว. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2544. เรื่องดี ๆ ของสาหร่าย: เอกสารการสัมมนา และปฏิบัติการ (WRC Workshop) เรื่อง Eutrophication and toxic cyanobacteria in freshwater reservoirs. ครั้งที่ 6, 8-10 กุมภาพันธ์ 2544 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

วิสุทธิ์ ใบไม้. 2538. สถานภาพความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ ฯ.

Ahuja, P., R. Gupta, and R.K. Saxena. 1999. $Zn^{2+}$ biosorption by *Oscillatoria anguistissirna*. Process Biochemistry 34: 77-85.

APHA, AWWA and WPCF. 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater, American Public Health Association. Washington DC.

Benovides, M. S. 1994. Algal periphyton in two rivers in Costa Rica with special reference to diatoms, organic pollution and altitudinal differentiation. Ph. D. Thesis. Innsbruck University. Innsbruck.

Dey, B., Lerher, D.L., Lusso, P., Boyd, M.R., Elder, J.H. and E.A. Berger. 2000. Multiple antiviral of cyanovirin-N: blocking of human immunodeficiency virus type I g120 interaction with CD4 and coreceptor and inhibition of diverse envelope viruses. Journal of Virology 74: 4562-4569.

Entwisle, T. J. 1989. Macroalgae in Yarra River Basin: flora and distribution. Proceeding of the Royal Society of Victoria Victoria 101: 1-76.

Foged, N. 1971. Freshwater diatoms in Thailand. Odense Publisher. Denmark.

Hustedt, F. 1937. Systematische und ökologische untersuchungen ber die Diatomeen-Flora von Java, Bali und Sumatra. Sonder-Abdruck aus dem Archiv für Hydrobiologie. Suppl.Bd.XV.: 131-177.

Krammer, K. and H. Lange-Bertalot. 1986. Bacillariophycae. Teil 1. Naviculacae. Süßwasserflora van Mitteleuropa,

Bd. 2, berg. Von A. Pascher. Gustav Fisher Verlag. Stuttgart.
Krammer, K. and H. Lange-Bertalot. 1988. Bacillariophycae. Teil 2. Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. Süßwasserflora van Mitteleuropa, Bd. 2, berg. Von A. Pascher. Gustav Fisher Verlag. Stuttgart.
Krammer, K. and H. Lange-Bertalot. 1991 a. Bacillariophycae. Teil 3. Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. Süßwasserflora van Mitteleuropa, Bd. 2, berg. Von A. Pascher. Gustav Fisher Verlag. Stuttgart.
Krammer, K. and H. Lange-Bertalot. 1991 b. Bacillariophycae. Teil 4. Achnanthaceae. Kritische Ergünzungen zu Navicula. Süßwasserflora van Mitteleuropa, Bd. 2, berg. Von A. Pascher. Gustav Fisher Verlag. Stuttgart.
Lorraine, L.J. and R. A. Vollenweider. 1981. Summary report, the OECD cooperative programe on eutrophication. National Water Research Institute. Burlington.
Necchi, O. and D. Pascoaloto. 1995. Morphometry of *Compsopogon coeruleus* (Compsopogonaceae, Rhodophyta) populations in a tropical river basin of southeastern Brazil. *Journal of Phycologia* 32: 150-168.
Palmer, R. G. 1970. Algae and water pollution. London Press. London.
Patterson, G.M. and G. M. Bolis. 1993. Regulation of accumulation in culture of *Scytonema ocellum*. I. physical factors. *Applied Microbiology and Biotechnology* 40: 375-381.
Pfister, V. P. 1992. Phytobenthos communities from 2 Tyrolean mountain streams. Arbeitsgemeinschaft Limnologie, Telfs. österreich.
Prescott, G. W. 1951. Algae of the Western Great Lake area. W.M.C. Brown Company Publisher. Iowa.
Prescott, G. W. 1970. How to know the freshwater algae. W.M.C. Brown Company Publisher. Iowa.
Round, F.E. 1973. The biology of the algae. Edward Arnold Limitted. London.
Rott, E. 1995. Diatoms of the Grand River, Ontario, Canada restudied after 25 years. Institüt für Botanik der Universitüt Innsbruck. Innsbruck.
Scheaffer, D.J. and V. S. Krylou. 2000. Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and cyanobacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 45 : 208-227.
Sheath, R.G. 1984. The biology of freshwater red algae. *Progress in Phycological Research* 3: 89-157.
Sheath, R. G. and M.C. Kathleen. 1992. Biogeography of stream macroalgae in North America. *Journal of Phycologia* 28: 448-460.
Wetzel, R.E. 1983. Limnology. Saunders College Publishing. Philadelphia.
Whitford, L. A. and G. J. Schumacher. 1969. A manual of the freshwater algae in North Carolina. The North Carolina Agricultural Experiment Station. North Carolina.
Whitton, B.A., I.G. Burrows and M.G. Kelly. 1989. Use of *Cladophora glomerata* to monitor heavy metals in rivers. *Journal of Applied Phycology* 1: 293-299.
Wong, S.L., Nakamoto L. and J. F. W. Wright. 1997. Detection of toxic organometallic complexs in wastewater using algal assays. *Arch. of Environmental Contamination & Toxicology* 32(4): 358-366.

# การสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ

**อาภารัตน์ มหาขันธ์, มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์, วัชรี กัลยาลัง และวัลลภา อรุณไพโรจน์**

ศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) 196 เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

## Abstract: Survey and Collection of Microalgal Strains from Natural Sources

The diversity of microalgae from various natural sources was investigated. In phase I, a survey and collection of microalgae from natural sources was completed with 348 samples collected, 151 of which were taken from the surface of buildings, cement, stones and brick, while 72 samples were from soil, 57 samples from water and 68 samples from lichens. The algae of these samples were categorized into 5 divisions, 13 orders, 28 families, 72 genera and 93 species which can be specified as follows: division Chlorophyta, 5 orders, 12 genera, 24 species; division Euglenophyta, 1 order, 1 genera, 2 species; division Cryptophyta, 1 order, 1 genera, 1 species; division Chrysophyta, 2 orders, 5 genera, 10 species and division Cyanophyta 4 orders, 9 genera, 35 species. In phase II, the diversity of microalgae from freshwater sources in the Bangkok metropolitan area and vicinity was investigated. Three hundred freshwater samples were collected from 23 districts in 6 provinces. The quality of these water samples was classified in accordance with the Surface Water Quality Standards of Thailand, B.E. 2537, in the range, level 1 to level 3. Algae were distributed among 4 divisions, 16 orders, 38 families, 91 genera and 230 species. Algae in the division Chlorophyta comprised 8 orders, 18 families, 40 genera and 82 species; in division Chrysophyta, 3 orders, 10 families, 17 genera and 26 species; in division Cyanophyta, 4 orders, 9 families, 32 genera and 121 species and in division Euglenophyta, 1 order, 1 family, 2 genera and 1 species. A total number of new records of 177 algal species were reported from the 2 phases of this project. The isolated algal strains are preserved and an algal database was constructed (Microsoft Access at BIOTEC and TISTR Culture Collection.

**Key words:** algae, survey, distribution

## บทนำ

สาหร่าย (microalgae) เป็นทรัพยากรชีวภาพที่มีความสำคัญ สาหร่ายกลุ่ม eucaryotic และสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (cyanobacteria, blue-green algae) ได้รับความสนใจมากเป็นพิเศษ เนื่องจากจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้นอกจากจะสามารถผลิตผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงแล้ว ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ได้อย่างกว้างขวางอีกด้วย มีต้นทุนการผลิตต่ำ เพราะสาหร่ายเจริญเติบโตในสภาพ photoautotroph โดยใช้แสงเป็นแหล่งของพลังงาน ใช้คาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศเป็นแหล่งของคาร์บอน และใช้ธาตุอาหารอื่นๆ ในรูปของสารประกอบอนินทรีย์ซึ่งมีราคาถูก อีกทั้งสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวหลายชนิดยังสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้ในการเจริญเติบโตได้โดยตรง โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) ได้เล็งเห็นความสำคัญและความจำเป็นในการจัดตั้งคลังเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่าย จึงให้การสนับสนุนศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.) (หน่วยบริการเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์เดิม) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) ในการสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) ทั้ง eucaryotic และ procaryotic จากแหล่งธรรมชาติ จัดทำอนุกรมวิธานและฐานข้อมูลของสายพันธุ์สาหร่ายเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งนี้มีขอบเขตของการสำรวจสาหร่ายจากแหล่งต่าง ๆ คือ สาหร่ายบนพื้นผิวอาคาร บ้านเรือน โบราณสถาน โบราณวัตถุ และวัสดุต่างๆ สาหร่ายในดิน สาหร่ายในแหล่งน้ำจืด และไลเคน

## สถานภาพงานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย

ในปี พ.ศ. 2443-2459 Johannes Schmidt จัดทำรายงานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในประเทศไทยลงใน “Flora of Koh Chang” ซึ่งได้จากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมโดยนักสำรวจชาวเดนมาร์ก ระหว่างปี พ.ศ. 2442-2443 และตั้งแต่ปี พ.ศ. 2520 เป็นต้นมา นักวิทยาศาสตร์ไทยเริ่มศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในประเทศไทย รวมทั้งการศึกษาเพื่อประเมินผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อม อาภารัตน์ (2543 ค.) โดยการสนับสนุนของโครงการ BRT

ได้รวบรวมงานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่าย โดยประเมินเปรียบเทียบกับพื้นที่และนิเวศวิทยาแหล่งน้ำที่สำคัญ ทั้งสภาพน้ำไหล และน้ำนิ่ง ตามภาคต่างๆ ของประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2510-2543 ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยมีงานวิจัยประมาณ 150 เรื่อง ในช่วงปี พ.ศ. 2530-2539 มีมากที่สุด คือ 65 เรื่อง และสำหรับปี พ.ศ. 2540-2543 มีงานวิจัยแล้วกว่า 30 เรื่อง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยที่ศึกษาระบบนิเวศทางน้ำ (aquatic ecosystem) มากกว่าระบบนิเวศบนบก (ดิน, ต้นไม้, หิน/วัสดุต่างๆ) มีบางส่วนเท่านั้นที่ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในไลเคน (phycobiont) (อาภารัตน์ และคณะ, 2539 ข) และสาหร่ายที่เจริญเติบโตบนพื้นผิวอาคาร บ้านเรือน โบราณสถาน และโบราณวัตถุ (นิชนันท์, 2540) โดยงานวิจัยเกือบทั้งหมดขาดการดำเนินการควบคู่ไปกับการอนุรักษ์สายพันธุ์สาหร่ายนอกถิ่นกำเนิด และการสร้างฐานข้อมูลสายพันธุ์สาหร่ายยกเว้นงานวิจัยที่ดำเนินการโดย ศูนย์จุลินทรีย์ วท. ซึ่งเป็นหน่วยงานที่ทำหน้าที่ให้บริการสายพันธุ์จุลินทรีย์เพียงแห่งเดียวของประเทศ

ตารางที่ 1. งานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในลุ่มน้ำหลัก แม่น้ำสำคัญ และเขื่อนในภาคต่างๆ ของประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2510-2543

| ภาค | พท. ตร. กม. (ร้อยละ) | จำนวน ลุ่มน้ำหลัก | จำนวน แม่น้ำ สำคัญ | เขื่อน/แหล่ง น้ำที่สำคัญ | จำนวนรายงานการวิจัย | | | | รวม |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 2510-2519 | 2520-2529 | 2530-2539 | 2540~ | |
| เหนือ | 169,644.29 (33.06) | 6 | 6 | 7 | 2 | 11 | 24 | 23 | 60 |
| ตะวันออกเฉียงเหนือ | 167,335 (33.00) | 3 | 4 | 11 | 3 | 2 | 16 | 1 | 22 |
| กลาง | 77,477 (15.10) | 7 | 11 | 9 | 22 | 5 | 16 | 10 | 53 |
| ตะวันออก | 34,380 (6.70) | 4 | 7 | 5 | - | 1 | 1 | 1 | 3 |
| ใต้ | 72,102 (13.77) | 5 | 9 | 2 | - | 5 | 8 | 1 | 14 |
| รวม | 520,938.29 (100) | 25 | 37 | 34 | 27 | 24 | 65 | 36 | 125 |

**สถานภาพความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย**

ความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายน้ำจืดและนิเวศบกในประเทศไทย เปรียบเทียบระหว่างจำนวนชนิดที่มีรายงานถึงปี พ.ศ. 2543 และที่รวบรวมได้ในปี พ.ศ. 2538 (OEPP, 1995) กับข้อมูลของโลก (รวมสาหร่ายทะเลด้วย) แบ่งความหลากหลายของสาหร่ายเป็น 7 กลุ่มอนุกรมวิธาน (ตามข้อมูลของโลกที่มี) ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (Cyanophyta), ยูกลีนอยด์ (Euglenophyta), ไดโนแฟลกเจลเลต (Dinophyta), คริปโตโมแนด (Cryptophyta), สาหร่ายสีแดง (Rhodophyta), สาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta) และเฮทเทอโรคอน (Heterokontophyta) จากการรวบรวมจำนวนสาหร่ายในประเทศปี พ.ศ. 2543 พบว่า จำนวนชนิดของสาหร่ายเพิ่มขึ้นจากเดิม 1,075 ชนิด (OEPP, 1995) เป็น 1,506 ชนิด (อาภารัตน์, 2543 ค.) เพิ่มขึ้นร้อยละ 40.09 กลุ่มที่พบความหลากหลายของชนิดมากที่สุด 3 กลุ่ม ได้แก่ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว สาหร่ายสีเขียว และเฮทเทอโรคอน กลุ่มที่มีรายงานการค้นพบเพิ่มขึ้นน้อย ได้แก่ ยูกลีนอยด์, ไดโนแฟลกเจลเลต และสาหร่ายสีแดง และกลุ่มที่ไม่มีรายงานการค้นพบเพิ่มขึ้นเลย คือ กลุ่มคริปโตโมแนด แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนชนิดที่พบยังน้อยมาก เมื่อเทียบกับจำนวนชนิดในโลกดังแสดงในตารางที่ 2

ข้อมูลความหลากหลายของชนิดสาหร่ายในประเทศไทย ยังไม่เพียงพอที่จะประเมินถึงชนิดที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ของประเทศ แต่เมื่อศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลจากวิทยานิพนธ์จำนวน 20 เรื่อง ซึ่งดำเนินการโดยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร (ระหว่างปี พ.ศ. 2516-2520) กับรายงานวิจัยโดย อาภารัตน์ และคณะ (2543 ก, ข) ในพื้นที่กรุงเทพมหานครและปริมณฑลพบว่า การสำรวจช่วงแรกพบสาหร่ายทั้งสิ้น 6 กลุ่ม ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว, สาหร่ายยูกลีนอยด์, สาหร่ายสีน้ำตาล (Chrysophyta), สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว, ไดโนแฟลกเจลเลต และสาหร่ายสีแดง โดยพบไดโนแฟลกเจลเลตสูงสุดถึง 11 สกุล (บุญยัง, 2517) และสาหร่ายสีแดง 6 สกุล (นรินทร์, 2518) ในขณะที่การสำรวจในช่วงหลัง (พ.ศ. 2540-2541) ไม่มีรายงานการสำรวจพบสาหร่ายในกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลตและสาหร่ายสีแดงในพื้นที่

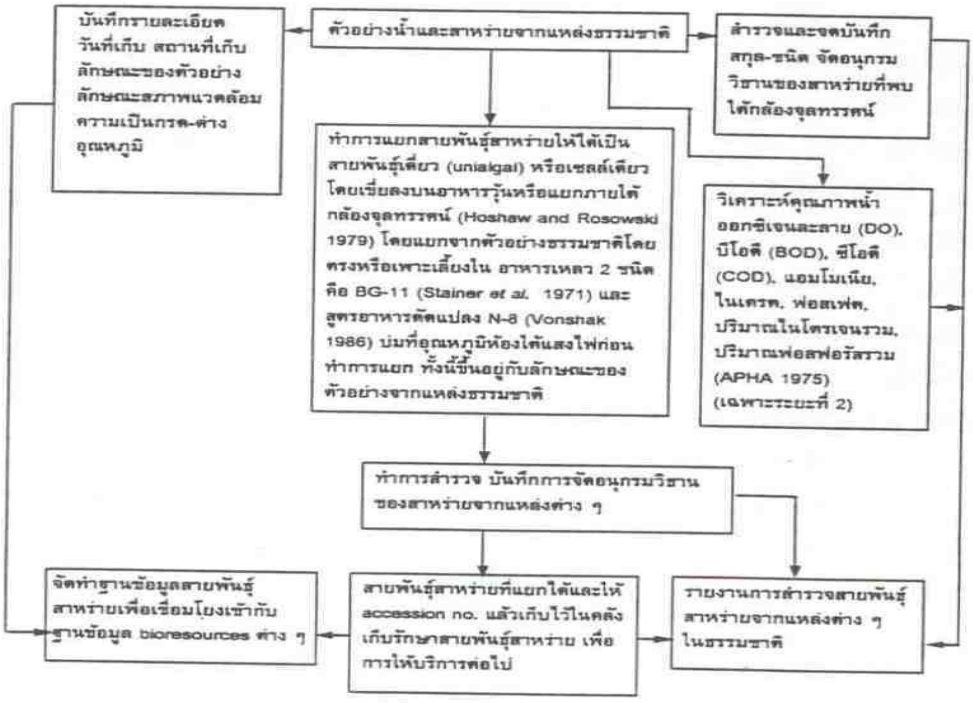
ดังกล่าว นอกจากนี้สาหร่ายสีแดง *Batrachospermum monifliforme* ซึ่งเป็นชนิดที่เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพแหล่งน้ำสะอาด พบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2445 ที่จังหวัดตราด (West and G.S. West, 1902 อ้างถึงใน OEPP, 1995) และได้สำรวจพบอีกครั้งใน 100 ปี ถัดมา ในลำน้ำแม่สา จังหวัดเชียงใหม่ (Kunpradid and Peerapornpisal, 1999)

ตารางที่ 2. จำนวนชนิดของสาหร่ายในโลกและของประเทศไทยที่รวบรวมได้ โดย OEPP (1995) และอาภารัตน์ (2543 ค.)

| กลุ่มอนุกรมวิธาน | ในโลก | ที่รวบรวมโดย OEPP (1995) | ที่รวบรวมใน อาภารัตน์ (2543) | เพิ่มขึ้น (ร้อยละ/เท่า) |
|---|---|---|---|---|
| Cyanophyta | 2,000 | 207 | 347 | 140 (67.63) |
| Euglenophyta | 900 | 55 | 94 | 39 (70.91) |
| Dinophyta | 2,000-4,000 | 2 | 6 | 4 (2 เท่า) |
| Cryptophyta | 200 | 2 | 2 | - |
| Rhodophyta | 4,000-6,000 | 1 | 5 | 4 (4 เท่า) |
| Chlorophyta | 14,000-15,000 | 393 | 533 | 140 (35.62) |
| Heterokontophyta | 12,000-16,000 | 415 | 519 | 104 (25.06) |
| รวม | 20,000-26,000 | 1,075 | 1,506 | 431 (40.09) |

## การสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ

ศูนย์จุลินทรีย์ วท. โดยการสนับสนุนของโครงการ BRT ได้ดำเนินโครงการสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ 2 ระยะ คือ ระยะที่ 1 (พ.ศ. 2539) เก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำทั่วไป 4 แหล่ง จำนวน 348 ตัวอย่าง ได้แก่ พื้นผิวอาคาร บ้านเรือน โบราณสถาน โบราณวัตถุ และวัสดุต่างๆ จำนวน 151 ตัวอย่าง ดิน 72 ตัวอย่าง น้ำ 57 ตัวอย่าง และไลเคน 68 ตัวอย่าง และระยะที่ 2 (พ.ศ. 2540) เก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำจืดที่สะอาดในพื้นที่กรุงเทพมหานครและปริมณฑล 6 จังหวัด 23 เขต/อำเภอ จำนวน 300 ตัวอย่าง ได้แก่ กรุงเทพมหานคร 12 เขต จำนวน 149 ตัวอย่าง นครปฐม 2 อำเภอ จำนวน 32 ตัวอย่าง นนทบุรี 3 อำเภอ จำนวน 52 ตัวอย่าง ปทุมธานี 2 อำเภอ จำนวน 50 ตัวอย่าง สมุทรปราการ 2 อำเภอ จำนวน 7 ตัวอย่าง และสมุทรสาคร 2 อำเภอ จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยมีวิธีการวิจัยดังแสดงในภาพที่ 1




ภาพที่ 1. วิธีการสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่างๆ ในธรรมชาติ

ผลการศึกษาในระยะที่ 1 (อาภารัตน์ และคณะ, 2539 ข.) พบว่า ตัวอย่างที่สุ่มเก็บจาก 4 แหล่ง คือ พื้นผิว ดิน น้ำ และไลเคน รวมทั้งสิ้น 348 ตัวอย่าง สามารถพบสาหร่ายในทุกตัวอย่างของพื้นผิว ดิน และน้ำ แต่ในกรณีของไลเคน สามารถตรวจพบสาหร่ายเพียง 18 ตัวอย่าง จาก 68 ตัวอย่าง

ในการศึกษาครั้งนี้สำรวจพบสาหร่ายทั้งสิ้น 5 ดิวิชัน (division) 13 ลำดับ (order) 28 วงศ์ (family) 72 สกุล (genus) และ 93 ชนิด (specie) (เฉพาะที่สามารถจัดจำแนกได้) ซึ่งดิวิชันที่สำรวจพบได้แก่ Chlorophyta, Euglenophyta, Cryptophyta, Chrysophyta และ Cyanophyta ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. สาหร่ายที่สำรวจพบ

| ดิวิชัน | ลำดับ | วงศ์ | สกุล | ชนิด* |
|---|---|---|---|---|
| Chlorophyta | 5 | 12 | 24 | 14 |
| Euglenophyta | 1 | 1 | 2 | - |
| Cryptophyta | 1 | 1 | 1 | - |
| Chrysophyta | 2 | 5 | 10 | - |
| Cyanophyta | 4 | 9 | 35 | 79 |
| รวม | 13 | 28 | 72 | 93 |

หมายเหตุ: *เฉพาะที่สามารถจัดจำแนกได้ตามหนังสืออ้างอิง

เมื่อพิจารณาตามแหล่งที่สำรวจแล้ว พบว่า ตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำจะมีความหลากหลายในระดับดิวิชันมากที่สุด คือ พบ 5 ดิวิชัน ตัวอย่างไลเคนพบน้อยที่สุด 2 ดิวิชัน โดยดิวิชัน Cyanophyta เป็นดิวิชันที่พบในทุกแหล่งที่สำรวจ รองลงไป คือ Chlorophyta, Chrysophyta, Euglenophyta และ Cryptophyta ตามลำดับ ส่วนแหล่งที่พบว่ามีความหลากหลายในระดับสกุลจากมากไปหาน้อย ได้แก่ น้ำ พื้นผิว ดิน และไลเคน โดยพบเป็นจำนวน 51, 44, 35 และ 7 สกุล ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4. สาหร่ายที่จัดจำแนกได้แยกตามประเภทของแหล่งสำรวจ

| แหล่งที่สำรวจ | ดิวิชัน | ลำดับ | วงศ์ | สกุล | ชนิด |
|---|---|---|---|---|---|
| ตัวอย่างพื้นผิว | Chlorophyta | 5 | 8 | 11 | 6 |
| | Chrysophyta | 1 | 4 | 7 | - |
| | Cyanophyta | 4 | 9 | 26 | 53 |
| | รวม 3 | 10 | 21 | 44 | 59 |
| ตัวอย่างดิน | Chlorophyta | 4 | 5 | 6 | - |
| | Euglenophyta | 1 | 1 | 1 | - |
| | Chrysophyta | 1 | 3 | 5 | - |
| | Cyanophyta | 4 | 9 | 23 | 36 |
| | รวม 4 | 10 | 18 | 35 | 36 |
| ตัวอย่างน้ำ | Chlorophyta | 4 | 9 | 19 | 9 |
| | Euglenophyta | 1 | 1 | 2 | - |
| | Cryptophyta | 1 | 1 | 1 | - |
| | Chrysophyta | 2 | 4 | 5 | - |
| | Cyanophyta | 4 | 7 | 24 | 32 |
| | รวม 5 | 12 | 22 | 51 | 41 |
| ตัวอย่างไลเคน | Chlorophyta | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Cyanophyta | 3 | 5** | 6** | 3** |
| | รวม 2 | 4 | 6 | 7 | 4 |

หมายเหตุ: *เฉพาะจัดจำแนกได้ตามหนังสืออ้างอิง **เป็นสกุลที่ไม่ใช่ phycobiont อยู่ 3 วงศ์ 3 สกุล และ 3 ชนิด

ตัวอย่างที่เก็บจากพื้นผิวอาคารบ้านเรือน โบราณสถาน โบราณวัตถุ และวัสดุต่างๆ จำนวน 151 ตัวอย่าง สำรวจพบสาหร่าย 3 ดิวิชัน (Chlorophyta, Chrysophyta และ Cyanophyta) 10 ลำดับ 21 วงศ์ 44 สกุล และ 59 ชนิด ตัวอย่างที่เก็บจากดิน จำนวน 72 ตัวอย่าง สำรวจพบสาหร่าย 4 ดิวิชัน (Chlorophyta, Euglenophyta, Chrysophyta

และ Cyanophyta) 10 ลำดับ 18 วงศ์ 35 สกุล และ 36 ชนิด ตัวอย่างจากน้ำ 57 ตัวอย่างพบสาหร่ายในระดับดิวิชันและลำดับมากที่สุดถึง 5 ดิวิชัน (Chlorophyta, Euglenophyta, Cryptophyta, Chrysophyta และ Cyanophyta) และ 12 ลำดับ ประกอบด้วย 22 วงศ์ 51 สกุล 41 ชนิด และตัวอย่างจากไลเคน จำนวน 68 ตัวอย่าง สามารถจัดจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายได้เพียง 18 ตัวอย่าง หรือเพียงร้อยละ 26.5 ของตัวอย่างไลเคน หรือ ร้อยละ 5.2 ของตัวอย่างทั้งหมด ทั้งนี้มีสาเหตุ 2 ประการ คือ ตัวอย่างไลเคนจำนวน 46 ตัวอย่าง ที่รับจากโครงการไลเคน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง อยู่ในสภาพแห้งและไม่พบสีเขียวของสาหร่ายที่อยู่ร่วมกับรา (phycobiont) อย่างไรก็ตาม เมื่อเติมอาหารเลี้ยงสาหร่ายแล้วพบว่ามีการเจริญเติบโตของสาหร่าย (phycobiont) 12 ตัวอย่าง ส่วนไลเคนอีก 16 ตัวอย่าง จาก 22 ตัวอย่าง ที่เก็บมาในสภาพสดและมีสีเขียว แต่เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงสาหร่าย เพื่อทำการแยกสายพันธุ์สาหร่ายแล้ว พบว่าสาหร่ายไม่สามารถเจริญเติบโตออกมาจากเส้นใยของเชื้อรา และไลเคนนั้นตายลง โดยปกติแล้วสาหร่ายที่อยู่ร่วมกับราในไลเคนจะมีความอ่อนไหว (sensitive) ต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมและมลพิษต่างๆ สูง ไลเคนจึงถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้มลพิษในอากาศ ดังนั้นหากต้องการที่จะสำรวจจัดจำแนกและเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่ายจากไลเคนแล้ว จึงน่าจะมีการศึกษาและพัฒนาเทคนิคในด้านนี้ต่อไป

ตัวอย่างไลเคนที่มีการเจริญเติบโตของสาหร่าย 18 ตัวอย่างนี้ สำรวจพบสาหร่าย 2 ดิวิชัน (Chlorophyta และ Cyanophyta) 4 ลำดับ 6 วงศ์ 7 สกุล 4 ชนิด ซึ่งในจำนวนนี้มีสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวที่ไม่ใช่ phycobiont ในไลเคนอยู่ 3 วงศ์ 3 สกุล 3 ชนิด คือ วงศ์ Chroococcaceae ได้แก่ *Synechococcus* sp. วงศ์ Entophysalidaceae ได้แก่ *Chlorogloea microcystoides* และ วงศ์ Oscillatoriaceae ได้แก่ *Oscillatoria amoena* และ *O. willei* ที่เป็นเช่นนี้น่าจะเนื่องมาจากการปนเปื้อนบริเวณผิวของไลเคนจากสาหร่ายในธรรมชาติ

สำหรับผลการสำรวจในระยะที่ 2 (อาภารัตน์ และคณะ, 2541) ซึ่งสำรวจสาหร่ายในแหล่งน้ำจืดที่สะอาด ในพื้นที่กรุงเทพฯ และปริมณฑล เมื่อนำผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้ง 300 ตัวอย่าง เฉพาะในช่วงเวลาที่เก็บมาพิจารณาในภาพรวม โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2537) ดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่า ส่วนใหญ่มีคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์ในประเภทที่ 1-3 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเป็นแหล่งน้ำที่มีคุณภาพดี โดยร้อยละ 98.67 ของตัวอย่าง มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในเกณฑ์ มีเพียงร้อยละ 1.33 เท่านั้นที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำกว่า 5.0 ร้อยละ 100 ของตัวอย่างมีปริมาณไนเตรตในหน่วยไนโตรเจนเป็นไปตามเกณฑ์ แต่มีแอมโมเนียในหน่วยไนโตรเจนมากกว่าเกณฑ์อยู่ร้อยละ 15.33 ของตัวอย่างทั้งหมด เมื่อพิจารณาเฉพาะค่าออกซิเจนละลายพบว่า ร้อยละ 97.33 ของตัวอย่างมีคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์ในประเภทที่ 1-3 โดยส่วนใหญ่จะมีคุณภาพตามการใช้ประโยชน์ในประเภทที่ 2 คือ ร้อยละ 46.33 หากทำการพิจารณาเฉพาะค่าบีโอดีแล้ว พบว่า ร้อยละ 85.33 ของตัวอย่างน้ำมีคุณภาพตามการใช้ประโยชน์ประเภทที่ 1-3 โดยร้อยละ 45.33 ของตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์การใช้ประโยชน์ประเภทที่ 1

ตารางที่ 5. ผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน

| ตัวอย่าง | ความเป็นกรด-ด่าง | | | ออกซิเจนละลาย มก./ล. | | | | บีโอดี มก./ล. | | | ไนเตรตในหน่วยไนโตรเจน มก./ล. | | แอมโมเนียในหน่วยไนโตรเจน มก./ล. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 5.0-9.0 | <5.0 | ธ | <6.0 | <4.0 | <2.0 | ธ | >1.5 | >2.0 | >4.0 | ธ | >5.0 | ธ | >5.0 |
| จำนวน | 296 | 4 | 68 | 139 | 85 | 8 | 136 | 39 | 81 | 44 | 300 | - | 254 | 46 |
| ร้อยละ | 98.67 | 1.33 | 22.67 | 46.33 | 28.33 | 2.67 | 45.33 | 13.00 | 27.00 | 14.67 | 100 | - | 84.67 | 15.33 |

หมายเหตุ: ธ=เป็นไปตามธรรมชาติ

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาการจัดชั้นน้ำตามปริมาณสารอาหาร (ปริมาณไนโตรเจนและปริมาณฟอสฟอรัสรวม) (Wetzel, 1983) เฉพาะปริมาณไนโตรเจนรวมพบว่า ตัวอย่างน้ำที่เก็บอยู่ในระดับต่ำปานกลาง-สูง (oligomesotrophic-eutrophic) ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสรวมอยู่ในระดับต่ำมาก-สูง (ultraoligotrophic-eutrophic) แต่โดยเฉลี่ยแล้วพบว่า ชั้นน้ำมีระดับของปริมาณสารอาหารในระดับสูง (eutrophic) ซึ่งเมื่อพิจารณาประกอบเข้ากับปัจจัยอื่นได้แก่ สภาพที่เหมาะสมทางภูมิประเทศ (มีแสงสว่างตลอดปี) และภูมิอากาศ (อุณหภูมิพอเหมาะ) ของประเทศไทยแล้ว จึงมีแนวโน้มว่าแหล่งน้ำที่ทำการสำรวจในครั้งนี้จะเกิดปัญหาการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของสาหร่าย (algae bloom) ในอนาคต

ในการสำรวจครั้งที่ 2 นี้สามารถจัดจำแนกสาหร่ายได้ทั้งสิ้น 4 ดิวิชัน (division), 16 ลำดับ (order), 38 วงศ์ (family), 91 สกุล (genus), 230 ชนิด (species) (เฉพาะที่สามารถจำแนกได้) ดิวิชันที่สำรวจพบได้แก่ Chlorophyta, Chrysophyta, Cyanophyta และ Euglenophyta ดิวิชัน Chlorophyta มีความหลากหลายมากที่สุดในระดับลำดับ วงศ์ และสกุล ส่วนดิวิชัน Cyanophyta มีความหลากหลายมากที่สุดในระดับของชนิดที่สามารถจัดจำแนกได้ ดังแสดงในตารางที่ 6

สำหรับจำนวนชนิดของสาหร่ายที่พบจากการสำรวจทั้ง 2 ระยะ ซึ่งมีรายงานเป็นครั้งแรกของประเทศไทย มีทั้งสิ้นจำนวน 177 ชนิด รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 7 และ 8

ผลจากการสำรวจทั้ง 2 ระยะ ได้ทำการแยกสายพันธุ์สาหร่ายไว้ทั้งสิ้น 300 สายพันธุ์ ฐานข้อมูลของสายพันธุ์สาหร่ายที่รวบรวมได้สร้างขึ้นจาก TISTR Culture Collection Accession Form โดยใช้โปรแกรม Microsoft Access

ตารางที่ 6. จำนวนสาหร่ายที่จัดจำแนกได้จากการสำรวจ

| ดิวิชัน | ลำดับ | วงศ์ | สกุล | ชนิด* |
|---|---|---|---|---|
| Chlorophyta | 8 | 18 | 40 | 82 |
| Chrysophyta | 3 | 10 | 17 | 26 |
| Cyanophyta | 4 | 9 | 32 | 121 |
| Euglenophyta | 1 | 1 | 2 | 1 |
| รวม 4 | 16 | 38 | 91 | 230 |

หมายเหตุ: *เฉพาะที่สามารถจัดจำแนกได้

ตารางที่ 7. จำนวนชนิดของสาหร่ายที่สำรวจพบเป็นครั้งแรกในประเทศไทยจากการสำรวจในระยะที่ 1 และ 2

| Division | ชนิดที่สำรวจพบ ระยะที่ 1[1] | ชนิดที่สำรวจพบ ระยะที่ 2[2] |
|---|---|---|
| Chlorophyta | 12 | 54 |
| Chrysophyta | - | 12 |
| Cyanophyta | 49 | 49 |
| Euglenophyta | - | 1 |
| รวม 177 | 61 | 116 |

หมายเหตุ: [1]เป็นชนิดที่ยังไม่มีในหนังสือ Algae in Thailand (OEPP, 1995) [2]เป็นชนิดที่ยังไม่มีในหนังสือ Algae in Thailand (OEPP, 1995) และในรายงานการสำรวจระยะที่ 1

ตารางที่ 8. ชนิดของสาหร่ายที่รายงานเป็นครั้งแรกในประเทศไทย

Division Chlorophyta
- Order Volvocales
  - Family Chlamydomonadaceae
    - *Chlamydomonas fenestrata*[1]
    - *C. gloeogama*[1]
    - *C. pertyi*[1]
    - *Haematococcus lacustris*[1,2]
  - Family Phagotaceae
    - *Coccomonas orbicularis*[2]
- Order Tetrasporales
  - Family Gloeocystaceae
    - *Gloeocystis gigas*[2]
    - *G. major*[2]
- Order Chlorococcales
  - Family Chlorococcaceae
    - *Chlorococcum humicola*[2]
    - *C. infusionum*[2]
    - *Tetraedron arthrodesmiforme*[2]
    - *T. minutissimum*[2]
  - Family Palmellaceae
    - *Sphaerocystis schroeteri*[2]
  - Family Oocystaceae
    - *Ankistrodesmus bernardii*[2]
    - *A. densus*[2]
    - *A. fusiformis*[2]
    - *Chlorella ellipsoidea*[1,2]
    - *C. vulgaria*[1,2]
      - var. *vulgaris***
    - *Franceia javanica*[2]
    - *Kirchneriella contorta*[2]
      - var. *gracillima***
    - *K. lunaris*[2]
    - *Quadrigula closteroides*[2]
    - *Q. subulosa*[2]
  - Family Radiococcaceae
    - *Coenocystis planctonica*[2]
    - *Radiococcus bavaricus*[2]
    - *R. planktonicus*[2]
  - Family Micractiniaceae
    - *Golenkinia paucispina*[2]
    - *G. radiata*[2]
    - *Golenkinopsis intergrum*[1]
    - *G. solitaria*[2]
  - Family Dictyosphaeriaceae
    - *Botryococcus calcareus*[2]
    - *Dictyosphaerium granulatum*[2]
  - Family Scenedesmaceae
    - *Coelastrum astroideum*[2]
      - var. *astroideum***
      - var. *negosum***
    - *C. microsporum*
      - var. *microsporum***
    - *C. morus*[2]
    - *C. reticulatum*[2]
    - *Dicellula planctonica*[2]
    - *Didymocystis bicellularis*[1,2]
    - *D. planctonica*[2]
    - *Scenedesmus acuminatus*
      - var. *acuminatus*
    - *S. acutus*[2]
    - *S. arcuatus*[1]
    - *S. armatus*[2]
      - var. *armatus***
      - var. *bicaudatus***

ตารางที่ 8. (ต่อ)

*K. pinguis*[1]
*Monoraphidium arcuatum*[2]
*M. braunii*[2]
*M. caribeum*[2]
*M. circinale*[2]
*M. contortum*[2]
*M. dybowskii*[2]
*M. griffithii*[2]
*M. pusillum*[2]
*Oocystis solitaria*[2]
*Tetrachlorella alternans*[2]
var. *alternans***
*T. coronata*[2]
*Tetradesmus cumbricus*[2]
*Tetrastrum glabrum*[2]
Family Hydrodictyaceae
*Pediastrum boryanum*
var. *boryanum***
var. *brevicorne***
*P. duplex*
var. *duplex***
var. *gracillimum***
*P. simplex*
var. *simplex***
Order Ulotrichales
Family Microsporaceae
*Microspora amoena*[1]
Order Chaetophorales
Family Chaetophoraceae
*Protococcus viridis*[2]
Family Desmidiaceae
*Closterium leibleinii*
var. *brevius***
Division Chrysophyta
Order Chromulinales
Family Chrysosphaeraceae
*Chrysosphaera gallica*[2]
Family Hydruraceae
*Hydrurus foetidus*[2]
Order Pennales
Family Achnanthaceae
*Achnanthes conspicua*[2]
*A. exigua*
var. *heterovalva***
Family Fragilariaceae
*Synedra fascicula*[2]
*S. minuscula*[2]
*S. ulna*[2]
var. *contracta***
*Tabellaris fenestrata*[2]
Family Naviculaceae
*Gyrosigma obtusatum*[2]
*Synechocystis aquatilis*[2]
Family Entophysalidaceae
*Chlorogloea fritschii*[2]
*C. microcystoides*[1,2]
Order Chameosiphonales
Family Pleurocapsaceae
*Myxosarcina burmensis*[1,2]
*M. spectabilis*[2]
Order Oscillatoriales
*S. bicaudatus*[2]
*S. lefevrii*[2]
*S. ovalternus*[2]
*S. polymorphous*[1]
*S. praetervirus*[2]
*S. producto-capitatus*[2]
*S. quadrispina*[2]
*S. serratus*[2]
*S. spinosus*[2]
*S. spinulatus*[2]
*Navicula agustata*[2]
*N. minima*[2]
*N. petersenii*[2]
Family Nitzschiaceae
*Nitzschia radiosa*[2]
Division Cyanophyta
Order Chroococcales
Family Chroococcaceae
*Anacystis compacta*[2]
*Aphanocapsa biformis*[1,2]
*A. delicatissima*[2]
*A. elachista*[2]
*A. koordersi*[2]
*A. montana*[2]
*A. pulchra*[2]
*A. roeseana*[1,2]
*Aphanothece castagnei*[1,2]
*A. microscopica*[2]
*Chroococcus cohaerens*[2]
*C. gomontii*[2]
*C. hansgirgi*[2]
*C. minor*[1,2]
*C. pallidus*[2]
*Cyanodictyon reticulatum*[2]
*Gloeocapsa aeruginosa*[1]
*G. atrata*[2]
*G. calcarea*[2]
*G. compacta*[2]
*G. crepidinum*[2]
*G. decorticans*[1]
*G. livida*[2]
*G. polydermatica*[2]
*Gloeothece palea*[2]
*G. samoensis*[2]
var. *major***
*Merismopedia aeruginea*[2]
*Microcystis pulverea*[2]
*M. robusta*[1,2]
*M. viridus*[1]
*Synechococcus aeruginosus*[2]
*S. cedrorum*[2]
*S. elongatus*[1,2]
*Phormidium africanum*[1]
*P. ambiguum*[1]
*P. angustissimum*[1,2]
*P. calcicola*[2]
*P. cebense*[1]
*P. foveolarum*[1,2]
*P. hieronymusii*[2]
*P. jenkelianum*[1,2]
*P. luridum*[1]

ตารางที่ 8. (ต่อ)

Family Oscillatoriaceae
*Arthrospira platensis*[1,2]
*Lyngbya baculum*[1,2]
*L. birgei*[1,2]
*L. contorta*[2]
*L. cryptovaginata*[1,2]
*L. gracilis*[1]
*L. lachneri*[1,2]
*L. mesotricha*[1]
*L. porphyrosiphonis*[2]
*L. rivularianum*[2]
*L. shackletoni*[2]
*L. spiralis*[1,2]
*Microcoleus acutissimus*[1]
*M. subtorulosus*[2]
*Oscillatoria amoena*[1,2]
*O. amphigranulata*[1]
*O. annae*[1,2]
*O. claricentrosa*[1]
*O. foreaui*[1]
*O. jasorvensis*[1,2]
*O. limnetica*[2]
var. *acicularia***
*O. limosa*[2]
*O. majuscula*[1]
*O. obscura*[1]
*O. okeni*[2]
*O. pseudogeninate*[1]
*O. spiralis*[1]
*O. subtilissima*[1,2]
*O. subuliformis*[2]
*O. willei*[1]
*P. pachydermaticum*[1]
*P. rotheanum*[1]
*P. rubroterricola*[1]
*Spirulina labyrinthiiformis*[1]
*S. maxima*[2]
*S. subtilissima*[2]
*Symploca muralis*[1]
Order Nostocalea
Family Nostocaceae
*Anabaenopsis circularis*[2]
*A. elenkinii*[2]
*Nostoc calcicola*[1,2]
*N. coeruleum*[2]
*N. punctiforme*
var. *populorum***
Family Stigonemataceae
*Hapalosiphon baronii*[2]
Family Scytonemataceae
*Plectonema dangeardii*[1,2]
*P. gracillimum*[1,2]
*P. hansgirgi*[2]
*P. notatum*[2]
*P. puleale*[2]
*Scytonema bohneri*[2]
*S. chiastum*[2]
*S. pseudohofmanni*[1]
*S. varium*[1]
Division Euglenophyta
Order Euglenales
Family Euglenaceae
*Euglena gaumei*[2]

หมายเหตุ: [1]ชนิดที่สำรวจพบในระยะที่ 1 [2]ชนิดที่สำรวจพบในระยะที่ 2 **สายพันธุ์ที่สำรวจพบในระยะที่ 2

## คุณสมบัติบางประการของสาหร่ายที่มีรายงานในต่างประเทศ

คุณสมบัติบางประการของสาหร่ายที่สำรวจพบบางสกุล/ชนิดที่มีรายงานในต่างประเทศ (Palmer and Square 1977) ดังแสดงในตารางที่ 9 โดยจะเห็นว่าครอบคลุมเพียงบางส่วนของสาหร่ายที่สำรวจพบในการศึกษาครั้งนี้เท่านั้น ยังมีส่วนที่นักสาหร่ายวิทยาในประเทศไทยต้องทำการศึกษาเพิ่มเติม รวมทั้งตรวจสอบคุณสมบัติว่าเป็นเช่นเดียวกับที่พบในต่างประเทศหรือไม่ โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่ต่างประเทศใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำ

ตารางที่ 9. คุณสมบัติบางประการของสาหร่ายที่สำรวจพบบางสกุล/ชนิดที่มีรายงานในต่างประเทศ (Palmer and Square, 1977)

| สาหร่าย | กลุ่ม[1] | คุณสมบัติ[2] |
|---|---|---|
| *Agmenellum* | BG | E, SP, St |
| *Anabaena* | BG | E, SP, St, T |
| *Anabaenopsis* | BG | SP |
| *Anacystis* | BG | E, I, SP, St |
| *Ankistrodesmus:* | G | E, I, SP, St |
| *falcatus* | | PF, PI, SP |
| *Botryococcus braunii* | G | PI |
| *Colothrix* | BG | E, SP |
| *Chlamydomonas* | FI | I, PE, SP, St, T |
| *Chlorella:* | G | I, E, SP, St |
| *ellipsoidea* | | PI |
| *vulgaris* | | PF |
| *Chlorococcum humicola* | G | PF, SP, St |
| *Cladophora* | G | A, E, SP, St |
| *Closterium:* | De | E, I, SP, St |
| *acerosum* | | PF |
| *minoliferum* | | F |
| *Coelastrum microporum* | G | E, PF, PI, St |
| *Crucigenia quadrata* | G | PI, SP, St |
| *Cyclotella:* | D | E, I, SP, St |
| *meneghiniana* | | F, PF |
| *Cymbella* | D | SP, St |
| *Dermocarpa* | BG | SP |
| *Diatoma* | D | E |
| *Dictryosphaerium:* | G | SP, St |
| *pulchellum* | | F, PI |
| *Eudorina elegans* | FI | PI, PF, SP |
| *Euglena* | FI | E, I, St, SP |
| *Fragilaria:* | D | E, SP |
| *capucina* | | PI |
| *crotonensis* | | E, PI, St, F |
| *Gloeocystis:* | G | E, SP |
| *gigas* | | A |
| *Golenkinia radiata* | G | PI, SP, St |
| *Gomphonema* | D | I, SP, St |
| *Gyrosigma* | D | E |
| *Hydrurus* | YG | C |
| *Kirchneriella:* | G | SP |
| *lunaris* | | PI |
| *Lyngbya:* | BG | E, SP |
| *lagerheimii* | | A |
| *putealis* | | A |

ตารางที่ 9. (ต่อ)

| สาหร่าย | กลุ่ม[1] | คุณสมบัติ[2] |
|---|---|---|
| *Microcoleus subtorulosus* | BG | C, PE |
| *Navicula:* | D | E, I, PE, SP, St |
| *exigua* | | C |
| *Nitzschia:* | D | E, I, SP, St |
| *palea* | | A, I, PF, F |
| *Oedogonium* | G | A, I, SP |
| *Oocystis* | G | E, SP, St |
| *Oscillatoria:* | BG | E, I, SP, St |
| *agardhii* | | PI |
| *chlorina* | | PF |
| *limosa* | | PF |
| *splendida* | | PF |
| *Pandorina morum* | FI | E, I, PI, SP, T |
| *Pediastrum:* | F | E, SP, St |
| *boryanum* | | PF, PI |
| *duplex* | | PI |
| *Phacus* | FI | I, SP, St |
| *Phormidium* | BG | A, F, I, SP, St |
| *Pinnularia* | D | SP |
| *Pleurosigma* | D | PI |
| *Scenedesmus:* | G | E, I, SP, St |
| *bijuga* | | PI |
| *obliquus* | | PF |
| *quadricauda* | | PF, PI |
| *Sphaerocystis schroeteri* | G | E, PI, SP |
| *Spirogyra* | G | A, E, SP |
| *Spirulina:* | BG | E, SP |
| *major* | | A, PE |
| *subtilissima* | | SP |
| *Stephanodiscus* | D | E |
| *Stichococcus* | G | SP |
| *Surirella:* | D | E, SP, St |
| *ulna* | | PF, T |
| *Tabellaria:* | D | E, F, St, T |
| *fenestrata* | | F, T |
| *Tetradesmus* | G | SP |
| *Tetraedron* | G | SP |
| *Tetrastrum* | G | SP |
| *Tolypothrix tenuis* | BG | A |

หมายเหตุ: [1]กลุ่ม: D=ไดอะตอม, G=สาหร่ายสีเขียว, BG=สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว, Fl=แฟลกเจลเลต, De=เดสมิด, YG = สาหร่ายสีเหลืองแกมเขียว [2] คุณสมบัติ: A=ยึดเกาะ, C=น้ำสะอาด, E=น้ำที่มีปริมาณสารอาหารสูง, F=อุดตันเครื่องกรอง, I=ดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำ, PF=น้ำจืดสกปรก, PI=แพลงก์ตอนพืชในทะเลสาบ, SP=บ่อน้ำทิ้ง, St=ลำธาร, T=เกิดกลิ่นและรส

ตารางที่ 10. ศักยภาพการนำสาหร่ายที่สำรวจพบมาใช้ประโยชน์

| การใช้ประโยชน์ | สาหร่ายที่คัดเลือก |
|---|---|
| ด้านสิ่งแวดล้อม | |
| ผลิตพลังงานสะอาด ($H_2$) | Chlorophyta/Cyanophyta ชนิดที่มีประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สไฮโดรเจน |
| กำจัดมลพิษในอากาศ ($No_x$, $So_x$) | Chlorophyta ชนิดที่เจริญเติบโตได้ดีที่ pH ต่ำมาก เช่น *Chlorella, Scenedesmus* |
| กำจัดน้ำเสีย (อินทรีย์/อนินทรีย์/สารพิษ/ โลหะหนัก | Chlorophyta เช่น *Chlorella, Scenedesmus*<br>Cyanophyta เช่น *Aphanothece, Chroococcus, Oscillatoria, Phormidium* |
| ด้านการเกษตร | Cyanophyta กลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนได้ เช่น *Anabaena, Calothrix, Fischerella, Hapalosiphon, Nostoc, Scytonema, Stigonema, Tolypothrix* |
| ปุ๋ยชีวภาพ | |
| สารปรับปรุงโครงสร้างดิน | Chlorophyta/Cyanophyta กลุ่มที่สร้าง polysaccharide เช่น *Chlamydomonas, Nostoc* |
| สารกำจัดศัตรูพืช | Cyanophyta กลุ่มที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต้านแมลงและโรคพืช เช่น *Fischerella, Hapalosiphon, Scytonema* |
| อาหารสัตว์ | Chlorophyta เช่น *Chlorella, Haematococcus, Scenedesmus*<br>Cyanophyta เช่น *Arthrospira, Spirulina* |
| ด้านอุตสาหกรรม | Chlorophyta เช่น *Chlorella,* Cyanophyta เช่น *Spirulina, Nostoc* |
| อาหารเสริมสุขภาพ | |
| สารสี | Chlorophyta เช่น *Haematococcus, Cyanophyta* เช่น *Anabaena, Spirulina* |
| กรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) | Cyanophyta เช่น *Spirulina* |
| น้ำมันหล่อลื่น (lubricant oil) | Chlorophyta เช่น *Botryococcus* |
| เภสัชภัณฑ์ | Cyanophyta ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต้านจุลินทรีย์สาเหตุโรค, สารยับยั้งเอนไซม์, สารที่เป็นพิษต่อเซลล์ เช่น *Fischerella, Hapalosiphon, Scytonema* |
| กระดาษ | Chlorophyta เช่น *Spirogyra* |
| ด้านเภสัชภัณฑ์ | |
| สารสี | Cyanophyta เช่น *Spirulina* |
| สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ | Cyanophyta โดยเฉพาะในวงศ์ Stigonemataceae |

## บทสรุป

ความหลากหลายของชนิดพันธุ์สาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทยยังถูกค้นพบน้อยมาก เมื่อเทียบกับที่มีรายงานของโลกทั้งๆ ที่สภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของไทย เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้เป็นอย่างยิ่ง ดังจะเห็นได้จากการสำรวจของศูนย์จุลินทรีย์ วท. เพียง 2 ระยะ สามารถพบชนิดที่รายงานเป็นครั้งแรกของประเทศไทยถึงกว่า 177 ชนิด จากตัวอย่าง 648 ตัวอย่าง ซึ่งสูงถึงร้อยละ 27 ของตัวอย่างที่เก็บ อย่างไรก็ตามการศึกษาจำเป็นต้องแข่งกับเวลา เนื่องจากสภาพแวดล้อมทุกด้านของประเทศโดยเฉพาะแหล่งน้ำจืดต่างๆ กำลังเผชิญกับปัญหาการเสื่อมโทรมอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องผนึกกำลังระหว่างกลุ่มนักสาหร่ายวิทยาและแหล่งทุนสนับสนุน กำหนดทิศทางวิจัยที่ชัดเจนและมีความต่อเนื่องในการสั่งสมองค์ความรู้ในด้านนี้เป็นการเฉพาะ เพื่อเป็นพื้นฐานที่มั่นคงในการนำมาใช้พัฒนาประเทศ

ตลอดจนการควบคุมปัญหาการเจริญเติบโตของสาหร่ายต่างๆ โดยเฉพาะสาหร่ายที่ผลิตสารพิษในแหล่งน้ำ ซึ่งส่งผลกระทบอย่างกว้างขวางต่อหน่วยย่อยระดับครัวเรือน จนถึงหน่วยใหญ่ในภาคเกษตรและอุตสาหกรรม น้ำจะเป็นทรัพยากรสำคัญที่เป็นข้อจำกัดการเจริญเติบโตและการพัฒนาประเทศ ดังนั้น การจัดการทรัพยากรน้ำทั้งในแง่ปริมาณและคุณภาพ จึงจำเป็นต้องมีการวางแผนในระยะยาวเพื่อนำไปสู่ความยั่งยืนในการใช้ประโยชน์ ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายจะมีบทบาทเป็นอย่างมากในส่วนนี้

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุและวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 139040

## เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2537. มาตรฐานคุณภาพแหล่งน้ำ. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติฉบับที่ 8. กรมควบคุมมลพิษ, กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

นรินทร์ ไทรฟัก. 2518. การสำรวจสาหร่ายในเขตอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

นิชนันท์ ทัดแก้ว. 2540. การศึกษาชนิดของสาหร่ายที่เจริญบนพื้นผิว และวิธีทดสอบสารที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของสาหร่าย. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยมหิดล. 113 หน้า.

บุญยัง ขันธะกาด. 2517. การสำรวจสาหร่ายน้ำจืดในเขตบางกอกใหญ่และภาษีเจริญ กรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

อาภารัตน์ มหาขันธ์, ณัฐพร พันธุมนาวิน และพงศ์เทพ อันตะริกานนท์. 2538. สาหร่ายกับศักยภาพที่รอการพัฒนา. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 10 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2538.

อาภารัตน์ มหาขันธ์ และณัฐพร พันธุมนาวิน. 2539 ก. คลังเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่าย: ความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ฉบับที่ 2 ปีที่ 11 พฤษภาคม-สิงหาคม 2539. หน้า 3-18.

อาภารัตน์ มหาขันธ์, ณัฐพร พันธุมนาวิน, นิชนันท์ ทัดแก้ว, สวรส ดำริชอบ, พัชรี ผดุงวงศ์, พรรณรัตน์ รัตนโชติ และทักษวัน ทองอร่าม. 2539 ข. การสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งน้ำต่าง ๆ ในธรรมชาติ. รายงานฉบับสมบูรณ์เสนอศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 99 หน้า.

อาภารัตน์ มหาขันธ์, วรนุชสุดา เฉลิมศิริ, วัชรี กัลยาลัง, มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์, ทวี สัปปินันท์, ชาตรี สุชาการ, จรัลรัตน์ เล็กรุ่งเรืองกิจ, รัฐพงษ์ บาลัน, ปฐมพร พูนสวัสดิ์, สุชาติ ทีฆกุล และวัลลภา อรุณไพโรจน์. 2541. การสำรวจและเก็บรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ: สาหร่ายในแหล่งน้ำจืดเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล. จัดพิมพ์โดยโครงการวิจัย BRT 139040. 91 หน้า.

อาภารัตน์ มหาขันธ์, วรนุชสุดา เฉลิมศิริ, วัชรี กัลยาลัง, มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์, ทวี สัปปินันท์, ชาตรี สุชาการ, จรัลรัตน์ เล็กรุ่งเรืองกิจ, รัฐพงษ์ บาลัน, ปฐมพร พูนสวัสดิ์, สุชาติ ทีฆกุล และวัลลภา อรุณไพโรจน์. 2543 ก. สาหร่ายในแหล่งน้ำจืดเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล: องค์ประกอบของชนิด. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2543. หน้า 3-20.

อาภารัตน์ มหาขันธ์, วรนุชสุดา เฉลิมศิริ, วัชรี กัลยาลัง, มยุรี ตั้งธนานุวัฒน์ และวัลลภา อรุณไพโรจน์. 2543 ข. สาหร่ายในแหล่งน้ำจืดเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล: การแพร่กระจาย. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม 2543. หน้า 73-86.

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2543 ค. สาหร่ายน้ำจืดกับการใช้ประโยชน์. ใน: วิสุทธิ์ ใบไม้และคณะ (บรรณาธิการ), บทความปริทัศน์งานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. Work Press Printing กรุงเทพฯ. หน้า 39-65.

APHA, AWWA and WPCF. 1975. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA Inc., New York, USA.

Carmichael, W. W. 1992. Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. *J. Appl. Bact.* 72:445-459.

Kunpradid, T. and Y. Peerapornpisal. 1999. Biodiversity of phytoplankton and macroalgae in Mae Sa strem, Doi Suthep-Pui National Park, Chiang Mai province. In Baimai, V. et al. (eds), Research Reports on Biodiversity in Thailand, 56-60 pp. Biodiversity Research and Tranining Program (BRT), Work Press Printing, Bangkok.

Mahakhant, A., M. Tungtananuwat, K. Kaya, K. Tachibana and V. Arunpairojana. 1999. Bioactive compounds producing cyanobacterial strains at MIRCEN, TISTR. International Conference on Asian Network on Microbial Research. November 29-December 1, 1999. Chiang Mai, Thailand. 95-103 pp.

Office of Environmental Policy and Planning (OEPP). 1995. Algae in Thailand. Integrated Promotion Technology Co., Ltd., Bangkok. 334 pp.

Palmer, M.C. and K. Square. 1977. Algae and Water Pollution. U.S. Environmental Protecting Agency, Ohio, U.S.A.

Sournia, A., M.-J. Chretiennot-Dinet, and M. Ricard, 1991. Marine phytoplankton: how many species in the world ocean? *Journal of Plankton Research* 13: 1093-1099.

Steiner, R.Y., R. Kunisawa, M. Mandel and G. Cohen-Bazire. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chlorococcales). *Bact. Rev.* 35: 171-205.

Vonshak, A. 1986. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. *In*: Richmand, A. (ed.), CRC Handbook of Microalgae Mass Culture. CRC Press Inc., Florida, U.S.A.

West, W. and G.S. West. 1902. Freshwater Chlorophycese. *In*: Schmidt, J. (ed.), Flora of Koh Chang, contributions to the knowledge of the vegetation in the Gulf of Siam. *Botanik Tiddsskrift* 24(4): 157-186.

Wetzel, R.G. 1983. Limnology. Saunders College Publishing, Philadelphia, U.S.A.

# A Review of Invertebrate Pathogenic Clavicipitaceae of Thailand

**Nigel Hywel-Jones**
BIOTEC-Mycology Laboratory, NSTDA, 73/1 Rajhdevee, Bangkok 10400

**Abstract:** Five 'hot spots' in the Fungal Kingdom have evolved close relationships with insects. In 1989 <10 species of invertebrate-pathogenic fungi were reliably documented from Thailand. That figure is now 313 morphotaxa. Of the 313 species recorded from Thailand two major classes of fungi are represented: Ascomycota and Zygomycota. Six teleomorphs of Clavicipitaceae were represented by 131 species (45%) while their asexual states had 163 species recorded (55%). With 86 *Cordyceps* from an accepted total of 282 Thailand accounts for 30% of the World total. The next most diverse genus was *Torrubiella* with 24 taxa recognised from Thailand; accounting for 43% of all described species. Of the 16 species of *Hypocrella* recorded 12 (75%) have anamorphs recorded – all *Aschersonia*. In Thailand, *Torrubiella* has been linked with *Engyodontium*, *Gibellula*, *Hirsutella*, *Paecilomyces* and *Verticillium*. *Cordyceps* has the broadest host range. Of 84 taxa of *Cordyceps* where the host could be reliably determined eight insect orders are represented plus *Araneae* and Fungi. By contrast, *Torrubiella* is limited to two insect orders (the Hemiptera/Homoptera and Lepidoptera) and spiders (*Araneae*) in Thailand. While *Cordyceps* accounts for 14 species as hosts of Homoptera this is only ca. 17% of all its hosts compared with 45% for *Torrubiella* and 100% for *Hypocrella*. This work in Thailand demonstrate the value of year round surveying in tropical forest. This study of invertebrate-pathogenic fungi is the longest-running and most complete mycological survey conducted in Thailand.

**Key words:** fungal kingdom, invertebrate-pathogenic fungi, mycological survey

## Introduction

Compared with other biodiversity groups (eg higher plants, mammals or birds) the fungi of Thailand are very poorly known. As recently as 1989 there were three times more bird species documented for Thailand than fungi. And yet current numbers of fungi in the world outnumber birds by 8 to 1. However, importantly, in the last ten years the significance of fungi in man's understanding of global biodiversity has increased. This is largely due to the Presidential Address of Hawksworth (1991) who produced estimates of fungal diversity from an analysis of a wide range of literature. Then *ca.* 68,000 species of fungi were considered described for the world - compared with *ca.* 9000 species of birds. However, Hawksworth (1991) estimated some 1.5 million fungi were awaiting discovery based on figures from the UK which showed a ratio of 6:1 for fungi and higher plants.

Most fungi have evolved relationships with higher plants; as pathogens, mycorrhizae, endophytes etc. Of the 75,000 fungal species currently accepted less than 4000 have been described from invertebrates. This undoubtedly reflects the small number of researchers that have worked on the biodiversity of these fungi. Fungi have been known from insects for more than 2000 years when Aristotle recorded that bees suffered from disease. There is evidence of Chinese herbalists using *Cordyceps* spp. as long ago as 2000 years (Pegler, Yao and Li, 1994). Fungi on insects exist in several forms including pathogens, saprobes and commensals. They are also cultivated by certain social insects. It is, however, beyond the bounds of this review to deal with all fungus-insect associations.

Thailand has presented unparalleled opportunities for collecting, isolating and studying 'insect fungi'. Hywel-Jones (in press) recognises five 'hot spots' in the Fungal Kingdom where fungi have evolved close relationships with insects. Excluding the specialised ectoparasitic Laboulbenialiales and Eccrinales there are *ca.* 700 species of invertebrate pathogens accepted (Hywel-Jones, in press). Most of these are found within the family Clavicipitaceae (Hypocreales). Of all fungal families this one is unique in having plant pathogens (eg *Claviceps*, *Balansia* and *Epichloë*) that have evolved from invertebrate pathogens rather than the other way round. Recent ecological, morphological and molecular phylogenetic studies have confirmed this unique development (Hywel-Jones and Samuels, 1998; Sullivan et al., 2000, Artjariyasripong et al., 2001).

This study of invertebrate-pathogenic fungi is the longest-running and most complete mycological survey ever conducted in Thailand. Most work has been done at Khao Yai National Park as this is easily accessible from Bangkok-based laboratories. In 1989 <10 species of invertebrate-pathogenic fungi were reliably documented from Thailand. That figure is now over 300 species. How this figure has been arrived at is the subject of this review.

## Methods

In Thailand there is a network of National Parks and wildlife reserves which account for 11% of the land area and include all of the major habitats of Thailand. These were all easily accessible by road and it proved possible to establish good field laboratories. The sites were usually surveyed on a monthly basis with 4-5 days sampling depending on distances involved. Surveys were usually carried out in the morning with processing of material in the afternoon and evening.

From 1989 to 1993 only Khao Yai was used for field work. Since late 1993 a programme to survey 11 other national parks on a monthly basis was established. The aim of this work was to survey all eleven parks at different months throughout the year. With the detailed work conducted at Khao Yai over a five year period (1989-1993) and which still continues there is a baseline for comparison.

Observations indicate that the invertebrate-pathogenic fungi (as with other fastidious groups) do not lend themselves easily to isolation in extreme environments. Early work (1989 and 1990) demonstrated that field isolation needed access to microscopes. Without this follow-up cleaning of cultures contamination due to associated organisms reached 100% within a few days. To be sure that a successful isolation is made there must be access to microscopes and sterile nutrient plates. Observation in the field and in the laboratory has demonstrated that there is not a real need for sterile cabinets. Aerial contamination can become a problem in dirty microbiology laboratories but so long as care is taken in minimising the exposure of the plates to the air it is possible to secure clean cultures with the aid of the microscopes.

Only good, undisturbed sites were chosen for surveys. Experience showed that any disturbance resulting in loss of forest would result in declines in insect populations and declines in the numbers and diversity of fungi. An apparently mature forest that had re-grown over 100 years lacked a diversity of invertebrate-pathogenic fungi because the insects had not effectively re-colonised the forest and allowed the pathogens to re-establish.

## Identification

Identification of invertebrate-pathogenic fungi is hampered by the lack of organised keys. There are guides and atlases to some representatives (Cooke, 1892; Kobayasi and Shimizu, 1983; Samson et al., 1988; Shimizu, 1994; Sung, 1996). Given the diversity of the fungi encountered, the difficulty of finding them and the apparent restricted geographic ranges of many of these fungi all of these guides suffer limitations. Shimizu (1994) was used until recently for Thai *Cordyceps* until a survey in Japan led this author to conclude there was little overlap between Thai and Japanese species. Identification is also hampered by the lack of access to herbarium material. Ultimately, final identification of many species will require careful examination of material from a range of sites.

Important surveys were made in Sri Lanka (Petch 1920's); Japan (Kobayasi from 1930's to 1980's); the Congo (formerly the Belgian Congo; Moureau, 1940's); Ghana (Evans, 1970's). More recently significant long-term investigations have been made in Taiwan (Tzean and co-workers) and Korea (Sung). All of these works have offered a basis for comparison of Thai material.

## Results and Discussion

From 1989 to 2001, 313 morphotaxa of invertebrate-pathogenic fungi were recorded from Thailand (Fig. 1). The identification and naming of these is still in progress and names are only provided when there is full confidence that this is correct. Where there is doubt the taxon is 'compared with' (cf) a known taxon.

### *The Hosts of Invertebrate-Pathogenic Fungi*

These fungi have often been called 'entomopathogenic', 'entomogenous' or 'insect fungi'. These names are often inappropriate since the Clavicipitaceae contains species that infect *Insecta*, *Araneae* (spiders and mites) and *Fungi*. The one connecting theme of these three apparently disparate host groups is the presence of chitin as a protective barrier to physical invasion. The subject of inter-kingdom host-jumping has recently been treated (Nikoh and Fukatsu, 2000) and clearly suggests that fungal pathogens evolved from insect pathogens. Of the 313 taxa, 75% were from 12 insect orders, 17% were specific to spiders and mites while 2% were specific to fungi. About 3% of taxa could not be assigned to a host while another 3% belonged to taxa acknowledged to be opportunistic pathogens with broad host ranges. For example, *Verticillium lecanii* has been reported as a pathogen of insects (mainly Homoptera: aphids and scale insects), eriophyid mites and other fungi (eg rusts) (Hall, 1981).

Of the 313 taxa of 'invertebrate-pathogenic fungi' by far the largest proportion is on the Hemiptera/Homoptera (Fig. 2) which accounts for ca. 33% of all hosts. Lepidoptera and *Araneae* (spiders and mites) also account for ca. 17% each meaning that three host groups account for 68% of all the fungi recorded.

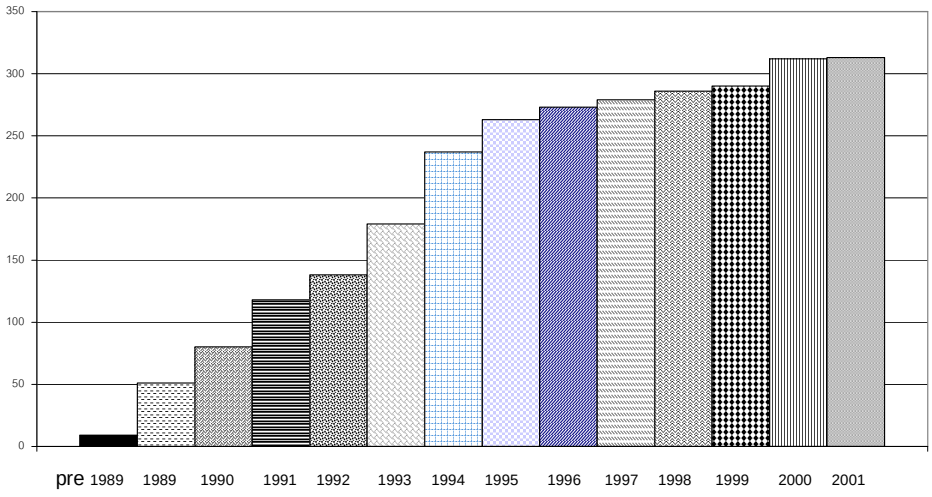



Figure 1. Increasing numbers of invertebrate-pathogenic fungi from Thailand.

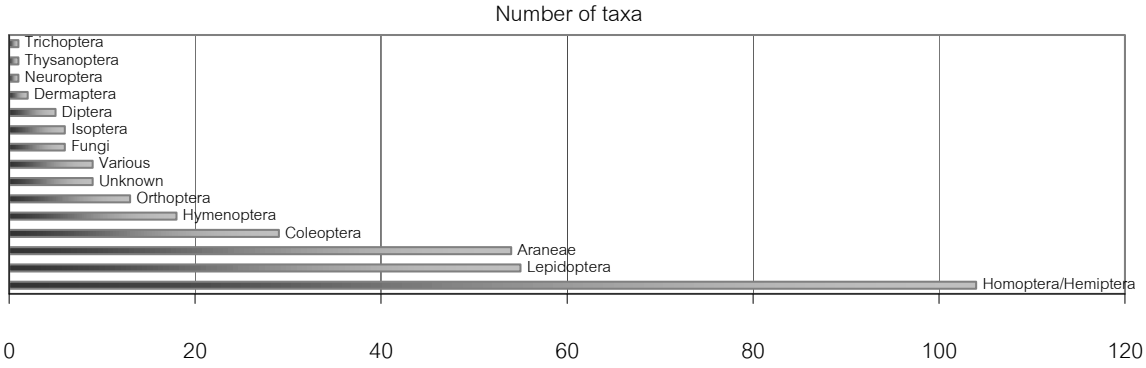



Figure 2. The hosts of invertebrate-pathogenic fungi recorded from Thailand.

Reviewing the host orders most of the hosts have associations with plants. Major orders such as Hemiptera/Homoptera and Lepidoptera are plant-feeders. The Hemiptera/Homoptera are phloem-feeders while Lepidoptera larvae are leaf or root feeders mainly. The Hymenoptera have a range of feeding strategies. This Order is unique in the Thai work in that all pathogens have been recorded from adults. Usually the immature insects are the more susceptible to attack (Kobayasi, 1941). Where predators have become infected these have usually been hosts with close relationships with microhabitats where pathogens are present. The assumption is that a pathogen of a plant-feeding host has jumped over to an associated predator. The hunting spiders have especially proved susceptible. Significantly, there are no records (in Thailand or elsewhere) of a clavicipitaceous fungus becoming a pathogen of the more sedentary web-spinning spiders although these may be susceptible to opportunistic pathogens.

***The Taxonomy of the Fungi***

Of the 313 species now recorded from Thailand two major classes of fungi are represented: Ascomycota and Zygomycota (Table 1). The Ascomycota represented the largest element of the collecting accounting for ca. 95% of the total records with <5% belonging to the Zygomycota.

This is in apparent contrast to temperate regions where the Zygomycota appear to be the dominant invertebrate pathogens (Evans, 1982). Significantly, extended work in Thailand suggests that Zygomycota may be more diverse than previously considered. In temperate regions these delicate

specimens can persist for several days during summer months (Hywel-Jones, 1984). However, in the tropics there is every indication that the death of the host and completion of sporulation possibly occurs within a twelve hour period of the night time and early morning (Hywel-Jones, unpubl. obs.). Fresh specimens of Entomophthorales were collected in the early morning in natural forest but rarely in the later afternoon. As many Entomophthorales have high host specificity they will likely be found on insects that are more communal; especially insects that might use the underside of leaves for resting during the night. The underside of basidiomycete fruit bodies would also make an ideal environment for Entomophthorales to develop on mycophagous insects. The very few records of Zygomycota recorded from Thailand does not hint at their absence, rather a lack of survey. This is an area of research that is ripe for follow-up.

Of the 298 Ascomycota, all were from the order Hypocreales and all but four (98%) were from the family Clavicipitaceae. Six teleomorphs of Clavicipitaceae were represented by 131 species (45%) compared with their asexual states (distributed in 16 anamorph genera) which had 163 species recorded (55%) (Table 1). The genus *Cordyceps* was, by far, the largest collected (86 species) and this is a reflection of its great species diversity in the world. Kobayasi (1982) recorded 282 species of *Cordyceps* compared with 56 of *Torrubiella*. Evans and Hywel-Jones (1990) reported on 38 species of *Hypocrella*. An up-to-date review of the numbers of *Cordyceps* has yet to be made but probably approaches 330 species now. The picture is further complicated by the presence of anamorphs. The fungi are unique in often having separate names attached to the sexual and asexual states of what is essentially the same genetic material. The significance of anamorphs in biodiversity assessments is treated below.

Thailand usually accounts for about 5-10% of global diversity when compared with major groups that have had their diversity well-researched. For example, by 1989 918 species of birds were recorded out of a World total of ca. 9000 (ca. 10% of World total) (Gray, Piprell and Graham, 1994). Of mammals, 282 Thai species are known from a world total of 4000 (ca. 7% of World total) (Gray, Piprell and Graham, 1994). Of the above three genera, *Cordyceps* is the most intensively studied on a global scale. Significantly, the figure of 30% is an under-estimate of the increasing diversity of the genus since many of the *Cordyceps* from Thailand are now regarded as new. Recent molecular phylogenetic work indicates that the genus *Cordyceps* is in need of major revision (Spatafora and Blackwell, 1993; Nikoh and Fukatsu, 2000; Artjariyasripong et al., 2001). With 86 *Cordyceps* from an accepted total of 282 Thailand accounts for 30% of the World total. A figure three times higher than normal for Thai biodiversity (Table 2).

The next most diverse genus was *Torrubiella* with 24 taxa being recognised from Thailand; accounting for 43% of all described species (Table 2). Those on spiders (11 species) are especially in need of careful taxonomic study. Unfortunately, in any one survey there is usually only a single

Table 1. An alphabetic list of genera pathogenic to invertebrates recorded from Thailand 1989-2001.

| Genus | Class | Anamorph or teleomorph | Number of Species |
|---|---|---|---|
| *Akanthomyces* | Ascomycota | Anamorph | 16 |
| *Aschersonia* | Ascomycota | Anamorph | 15 |
| *Basidiobolus* | Zygomycota | | 1 |
| *Beauveria* | Ascomycota | Anamorph | 5 |
| *Conidiobolus* | Zygomycota | | 1 |
| *Cordyceps* | Ascomycota | Teleomorph | 86 |
| *Cosmospora* | Ascomycota | Teleomorph | 1 |
| *Engyodontium* | Ascomycota | Anamorph | 2 |
| *Entomophaga* | Zygomycota | | 1 |
| *Entomophthora* | Zygomycota | | 1 |
| *Erynia* | Zygomycota | | 5 |
| 'Other Entomophthorales' | Zygomycota | | 4 |
| *Fusarium* | Ascomycota | Anamorph | 1 |
| *Gibellula* | Ascomycota | Anamorph | 18 |
| *Granulomanus* | Ascomycota | Anamorph | 3 |
| *Helicoma* | Ascomycota | Anamorph | 1 |
| *Hirsutella* | Ascomycota | Anamorph | 55 |
| *Hymenostilbe* | Ascomycota | Anamorph | 19 |
| *Hyperdermium* | Ascomycota | Teleomorph | 3 |
| *Hypocrella* | Ascomycota | Teleomorph | 16 |
| *Metarhizium* | Ascomycota | Anamorph | 3 |
| *Neozygites* | Zygomycota | | 1 |
| *Nomuraea* | Ascomycota | Anamorph | 2 |
| *Paecilomyces* | Ascomycota | Anamorph | 9 |
| *Peziotrichum* | Ascomycota | Anamorph | 1 |
| *Peziotrichum* teleomorph | Ascomycota | Teleomorph | 1 |
| *Phytocordyceps* | Ascomycota | Teleomorph | 2 |
| *Pleurodesmospora* | Ascomycota | Anamorph | 1 |
| *Podonectria* | Ascomycota | Teleomorph | 1 |
| *Polycephalomyces* | Ascomycota | Anamorph | 3 |
| *Pseudogibellula* | Ascomycota | Anamorph | 2 |
| *Sphaerocordyceps* | Ascomycota | Teleomorph | 2 |
| *Stilbum* | Ascomycota | Anamorph | 1 |

representative of a *Torrubiella* found on a spider. Consequently, large enough populations have not been collected yet to adequately determine species separations. However, with continued isolations of the *Torrubiella* and their *Gibellula* anamorphs molecular work will allow clarification of this genus in the coming years.

Table 2. A comparison of totals of major clavicipitaceous teleomorphs compared with world totals.

| Genus | Species from Thailand | Reported for the world | Thai % of the World |
|---|---|---|---|
| *Cordyceps* | 86 | 282 | 30 |
| *Hypocrella* | 16 | 38 | 42 |
| *Torrubiella* | 24 | 56 | 43 |

*Hypocrella* was comparable to *Torrubiella* in accounting for 42% of the World diversity (Table 2). *Hypocrella* is a genus where few new species have been recorded from Thailand. By comparison some 60% of the 86 *Cordyceps* recorded will need to be named as new species. The lower species diversity of *Hypocrella* is possibly a consequence of its restricted host range (Homoptera: Coccidae and Aleyrodidae) and its apparent recent evolution from *Cordyceps* (Artjariyasripong et al., 2001).

***The Importance of Anamorphs***

Occasionally anamorphs and teleomorphs can be found together and the links immediately made. Of the 131 species of Clavicipitaceae recorded from Thailand 51 (39%) of these have had reliable anamorph links made (Table 3). Of the 16 species of *Hypocrella* recorded 12 (75%) have anamorphs recorded – all belonging to the genus *Aschersonia* (Table 3). Of the four *Hypocrella* species that do not have an *Aschersonia* anamorph known from nature two of them have produced anamorphs in culture. One is *Aschersonia*-like while the other (the anamorph of *Hypocrella schizostachyi*) has affinities to nectriaceous anamorphs (Hywel-Jones and Samuels, 1998). Both *Hypocrella scutata* and *H. schizostachyi* have features (especially the absence of *Aschersonia* anamorphs) that suggest these might need new genera naming to accommodate them. Further, as they bear little similarity to each other it is expected that two new genera will be involved. Molecular work is in progress to determine the relationships to *Hypocrella* and other Clavicipitaceae.

Table 3. Teleomorph-anamorph links currently accepted in Thailand.

| Teleomorph | Corresponding Anamorph |
|---|---|
| *Hypocrella badia* | *Aschersonia badia* |
| *Hypocrella acutispora* | *Aschersonia acutispora* |
| *Hypocrella javanica* | *Aschersonia coffeae* |
| *Hypocrella mollii* | *Aschersonia confluens* |
| *Hypocrella hypocreoidea* | *Aschersonia hypocreoidea* |
| *Hypocrella reineckinana* | *Aschersonia marginata* |
| *Hypocrella oxystoma* | *Aschersonia oxystoma* |
| *Hypocrella palmicola* | *Aschersonia palmicola* |
| *Hypocrella raciborski* | *Aschersonia placenta* |
| *Hypocrella discoidea* | *Aschersonia samoensis* |
| *Hypocrella tamurai* | *Aschersonia tamurai* |
| *Hypocrella tubulata* | *Aschersonia tubulata* |
| *Cordyceps brongniartii* | *Beauveria brongniartii* |
| *Cordyceps brunneapunctata* | *Hirsutella brunneapunctata* |
| *Cordyceps* cf *acicularis* | *Hirsutella* cf *acicularis* |
| *Cordyceps* cf *obtusa* on elaterid | *Hirsutella* cf *obtusa* sp01 on elaterid |
| *Cordyceps* cf *obtusa* sp02 on cicada | *Hirsutella* cf *obtusa* sp02 on cicada |
| *Cordyceps cylindrica* | *Nomuraea atypicola* |
| *Cordyceps dipterigena* | *Hymenostilbe dipterigena* |
| *Cordyceps humberti* | *Hirsutella sausserei* |
| *Cordyceps irangiensis* | *Hymenostilbe aurantiaca* |
| *Cordyceps myrmecophila* | *Hymenostilbe aurantiaca* |
| *Cordyceps nipponica* | *Polycephalomyces nipponica* |
| *Cordyceps nutans* | *Hymenostilbe nutans* |
| *Cordyceps pseudolloydii* | *Hymenostilbe pseudolloydii* |
| *Cordyceps* sp.01 on termite | *Hirsutella* sp01 on termite |
| *Cordyceps* sp01 on cricket | *Hirsutella* sp01 on cricket |
| *Cordyceps* sp01 on locust eggs | *Hirsutella* sp01 on locust eggs |
| *Cordyceps* sp02 on cricket | *Hirsutella* sp02 on cricket |
| Teleomorph | Corresponding Anamorph |
| *Cordyceps* sp02 on termite | *Hymenostilbe* sp02 on termite |
| *Cordyceps* sp02 on elaterid | *Hirsutella* state of *Cordyceps* sp02 on elaterid |
| *Cordyceps* sp03 on cricket | *Hirsutella* sp03 on cricket |
| *Cordyceps* sp03 on termite | *Hirsutella* sp03 on termite |
| *Cordyceps* sp08 on Lepidoptera | *Hirsutella* state of *Cordyceps* sp08 |
| *Cordyceps* sp21 on Lepidoptera | *Hirsutella* state of *Cordyceps* sp21 on Lepidoptera |
| *Cordyceps* sp22 on Lepidoptera | Paecilomyces tenuipes |
| *Cordyceps sphecocephala* | *Hymenostilbe sphecocephala* |
| *Cordyceps tuberculata* | *Akanthomyces pistillariiformis* |
| *Cordyceps unilateralis* | *Hirsutella formicarum* |
| *Torrubiella tenuis* | *Hirsutella* state of *Torrubiella tenuis* |
| *Torrubiella pruinosa* | *Hirsutella versicolor* |
| *Torrubiella* state of *Gibellula pulchra* | *Gibellula pulchra* |
| *Torrubiella luteorostrata* | *Paecilomyces cinnamomeus* |
| *Torrubiella* cf *alba* | *Gibellula* sp10 *alba* |
| *Torrubiella hemipterigena* | *Verticillium hemipterigenum* |
| *Torrubiella iriomoteana* | *Hirsutella* state of *Torrubiella iriomoteana* |
| *Torrubiella siamensis* | *Hirsutella* state of *Torrubiella siamensis* |
| *Torrubiella* state of *Gibellula* sp03 | *Gibellula* sp03 |
| *Torrubiella* state of *Gibellula* sp04 | *Gibellula* sp04 |
| *Torrubiella* state of *Gibellula* sp05 | *Gibellula* sp05 brown one |
| *Torrubiella* of *Engyodontium* sp02 | *Engyodontium* sp02 on spider |

Of the 24 species of *Torrubiella* recorded from Thailand 50% have well-documented anamorphs (Table 3). Unlike *Hypocrella*, a single anamorph is not a feature of this genus. In Thailand, to date, *Torrubiella* has been linked with *Engyodontium*, *Gibellula*, *Hirsutella*, *Paecilomyces* and *Verticillium*. *Verticillium* is a genus with wide associations and is increasingly the subject of molecular work to determine affinities (Spatafora pers. comm.). *Verticillium lecanii* was the first *Verticillium*

linked to *Torrubiella* and this was reported from Thailand. Significantly, the *Torrubiella* state of *V. lecanii* (*Torrubiella confragosa*) has not been found in Thailand. The *Torrubiella-Gibellula* link is of special note.

The anamorph genus *Gibellula* is exclusive to hunting spiders (especially Salticidae and Thomisidae) and is only associated with the teleomorph *Torrubiella*. By comparison, *Hirsutella*, *Paecilomyces* and *Verticillium* have links with other teleomorphs. *Gibellula* was the subject of studies by Samson and Evans (1973), Samson and Evans (1992) and Tzean, Hsieh and Wu (1996). From these studies 10 species of *Gibellula* have been accepted. By contrast, Kobayasi and Shimizu (1982) have described some 34 species of *Torrubiella* from spiders which may be expected to have *Gibellula* anamorphs. Significantly, of the nine species of *Gibellula* known for the world only two of these have been reported from Thailand. Sixteen other species of *Gibellula* are now known from Thailand and will require naming as new. No monographic treatment has been made of *Gibellula*. The large collections of *Gibellula* from Thailand and, significantly, the many isolates that have been brought into culture will allow a major contribution to be made to knowledge of *Torrubiella-Gibellula*. Evans (pers. comm.) made a large collection of *Gibellula* from the Sulawesi (Indonesia, 1980's) and it is notable that few of these specimens match with those recorded from Thailand (Evans and Hywel-Jones, unpubl. obs.). Undoubtedly there are many more species of *Gibellula* present than the current record of 23 species for the World would suggest.

Table 4. Synanamorphs currently accepted in Thailand.

| Teleomorph | Anamorph | Synanamorph |
|---|---|---|
| *Torrubiella* state of *Gibellula pulchra* | *Gibellula pulchra* | *Granulomanus* state of *Gibellula pulchra* |
| 'Presumed *Torrubiella*' | *Gibellula* sp08 | *Granulomanus* state of *Gibellula* sp08 |
| 'Presumed *Torrubiella*' | *Gibellula* sp09 | *Granulomanus* state of *Gibellula* sp09 |
| 'Presumed *Cordyceps* | *Hirsutella petchabunensis* | *Helicoma* state of *Hirsutella petchabunensis* |

## The Further Complication of Synanamorphs

Unlike higher plants and animals, the fungi have extremely plastic life-cycles. There is no 'typical' life-cycle. Although effort is being made to link up asexual and sexual states within genetic species the matter is further complicated by the presence (sometimes) of synanamorphs. In Thailand, synanamorphs have occasionally been found. The genus *Granulomanus* has been found exclusively with the anamorph *Gibellula* and so, by inference, is related to the teleomorph *Torrubiella* (Table 4). It is always found in the entangling mycelium covering the host spider or occasionally growing on the *Gibellula* conidiophores instead of the more typical *Gibellula* phialides. Field observations suggest this is formed in response to increased humidity or water availability. Another synanamorph recorded from only a single collection was a helical one associated with *Hirsutella petchabunensis* (Hywel-Jones, Goos and Jones, 1998). This synanamorph was linked with the helicosporous genus *Helicoma* although this is probably not a good name. Although no sexual state has been recorded the growth form of the *Hirsutella* and the Lepidoptera host strongly suggest a *Cordyceps* of the '*epicarposoma* group' (Kobayasi, 1982). Many specimens have been found that are being compared with *Cordyceps* cf. *acicularis* ('*epicarposoma* group') but in everyone of these examined no further examples of a helical synanamorph have been found. If further specimens or species were found a use might be made for establishing a new genus since *Helicoma* is an anamorph of *Tubeufia* and *Thaxteriella* (Goos, 1986).

### *The Disposition of Hosts Amongst the Three Major Genera:*

*Cordyceps*, *Torrubiella* and *Hypocrella* do not have the major host groups equally divided amongst them (Table 5). Importantly, *Cordyceps* has the broadest host range. Of 84 taxa of *Cordyceps* where the host could be reliably determined eight insect orders are represented plus *Araneae* and Fungi (Table 5). By contrast,

Table 5. Hosts of the three main clavicipitaceous teleomorph genera in Thailand.

| *Cordyceps* hosts | | | *Torrubiella* hosts | | | *Hypocrella* hosts | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | % | | | % | | | % |
| Lepidoptera | 24 | 28.5 | Araneae | 11 | 45.8 | Homoptera | 16 | 100 |
| Coleoptera | 15 | 17.9 | Homoptera/Hemiptera | 11 | 45.8 | | | |
| Homoptera/ Hemiptera | 14 | 16.7 | Lepidoptera | 2 | 8.4 | | | |
| Hymenoptera | 9 | 10.7 | | | | | | |
| Araneae | 7 | 8.3 | | | | | | |
| Orthoptera | 5 | 6.0 | | | | | | |
| Fungi | 4 | 4.8 | | | | | | |
| Isoptera | 3 | 3.6 | | | | | | |
| Diptera | 2 | 2.4 | | | | | | |

*Torrubiella* is limited to two insect orders (the Hemiptera/Homoptera and Lepidoptera) and spiders (*Araneae*) in Thailand. Finally, the genus *Hypocrella* is only known from Homoptera and specifically from two families; coccids and aleyrodids.

While *Cordyceps* accounts for 14 species as hosts of Homoptera this is only ca. 17% of all its hosts compared with 45% for *Torrubiella* and 100% for *Hypocrella*. Especially significant is that while *Cordyceps* infects many insect orders the Lepidoptera alone accounts as host to 29% of all *Cordyceps*. The type species of *Cordyceps* – *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link – is from Lepidoptera and there is every indication that the genus *Cordyceps sensu stricto* will prove to be largely confined to Lepidoptera and some Coleoptera.

### *The Distribution of Invertebrate-Pathogenic Fungi in Thailand*

These fungi were found from sea level (Phu To Daeng) to the summit of Doi Inthanon. They can be found in disturbed ecosystems, agricultural ecosystems and urban areas (Bangkok). In all such areas the diversity is low (<10 spp). They are best found in primary forest where diversity is high. For Khao Yai more than 200 species have now been reported. Of the 313 records, 189 were first reported from Khao Yai (Table 6).

Table 6. Major sites where first records were first reported in Thailand.

| Site | First records |
|---|---|
| Khao Yai National Park | 189 |
| Doi Inthanon National Park | 25 |
| Nam Nao National Park | 17 |
| Kaeng Krachan National Park | 13 |
| Khlong Nakha wildlife reserve | 9 |
| Khao Soi Dao/Khao Sabap | 7 |
| Khao Laem National Park | 6 |
| Khao Sak National Park | 5 |

## Conclusions

With the recent global interest in biological diversity there has been increased interest in surveying the fungi that are present in tropical forests. Some of this work has been spurred by pharmaceutical companies wanting access to new and interesting fungi. This work on invertebrate-pathogenic fungi has demonstrated that in Thailand there is a very rich diversity. Kobayasi recorded ca. 62 species of *Cordyceps* from Japan over a fifty year period. Almost 90 species have been recorded from Thailand in just 12 years. This work in Thailand demonstrates the value of year round surveying in tropical forest. It is only in this way that the rarities will be found and that industry's thirst for novel or different fungi to put through its screens can be satisfied.

Some invertebrate-pathogenic fungi which are currently confined to natural habitats may have potential as biological control agents. Others may be significant as sources of novel metabolites. Until detailed surveys are made of these fungi in their natural habitats it is not possible to determine their worth.

## Acknowledgements

Over the years many people have been involved in looking for invertebrate-pathogenic fungi. They are not easy to find. Important contributions have been made by: Rungtip Nasit, Somsak Sivichai, Kanoksri Tasanatai, Ratchada Plomhan, Plernpit Lutthisungneon, Benjawan Tongsridam. Internationally, Harry Evans, Rob Samson, Gary Samuels, Joey Spatafora, Julian Mitchell and Jim White have made intellectual contributions to the authors ideas. Financial support has come from Xenova, BIOTEC, BRT and personal savings. Lastly, the important support of Drs Banpot Napompeth, Sakarindr Bhumirattana, Morakot Tanticharoen and Ruud Valyasevi is acknowledged.

## References

Artjariyasripong, S., J.I. Mitchell, N.L. Hywel-Jones and Jones, E.B.G. 2001. *Mycoscience*.

Cooke, M.C. 1892. Vegetable wasps and plant worms. A popular history of entomogenous fungi, or fungi parasitic upon insects. Society for Promoting Christian Knowledge, London. pp. 364.

Evans, H.C. 1982. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystems: an appraisal. *Ecological Entomology* 7: 47-60.

Evans, H.C. and N.L. Hywel-Jones. 1990. Aspects of the genera *Hypocrella* and *Aschersonia* as pathogens of coccids and whiteflies. *In* D.J. Cooper, J. Drummond and D.E. Pinnock (eds.), Proceedings of the 5th International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control: 5th International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control, pp. 111-115. Society for Invertebrate Pathology, Adelaide, Australia.

Goos, R.D. 1986. A review of the anamorph genus *Helicoma. Mycologia* 78: 750-769.

Gray, D., C. Piprell and M Graham. 1994. National Parks of Thailand. Thai Wattana Panich, Bangkok. pp. 250.

Hall, R.A. 1981. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. *In* H.D. Burges (ed.), Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980, pp 483-498. Academic Press, London.

Hawksworth, D.L. 1991. Presidential address 1990: The fungal dimension of biodiversity magnitude significance conservation. *Mycological Research* 95: 641-655.

Hywel-Jones, N.L. 1984. The infection of Simuliidae by the entomopathogenic fungus *Erynia conica* Rem and Henn. Unpublished PhD thesis. University of Exeter, pp. 248.
Hywel-Jones, N.L. The importance of invertebrate-pathogenic fungi from the tropics, in press.
Hywel-Jones, N.L. and G.J. Samuels. 1998. Three species of *Hypocrella* with large stromata pathogenic on scale insects. *Mycologia* 90: 36-46.
Hywel-Jones, N.L., R.D. Goos and E.B.G. Jones. 1998. *Hirsutella petchabunensis* sp. nov. from Thailand with a *Helicoma* synanamorph. *Mycological Research* 102: 577-581.
Kobayasi, Y. 1941. The genus *Cordyceps* and its allies. *Science Reports of the Tokyo Bunrika Daigaku Section, B. No 84* 5: 53-260.
Kobayasi, Y. 1982. Keys to the taxa of the genera *Cordyceps* and *Torrubiella. Transactions of the mycological Society of Japan* 23: 329-364.
Kobayasi, Y. and D. Shimizu. 1982. Monograph of the genus *Torrubiella. Bulletin of the National Science Museum, Tokyo Series B* 8: 43-78.
Kobayasi, Y. and D. Shimizu. 1983. *Iconography of vegetable wasps and plant worms*. Hoikusha Publishing Company, Ltd. Osaka. pp. 280.
Nikoh, N. and T. Fukatsu. 2000. Interkingdom host jumping underground: Phylogenetic analysis of entomoparasitic fungi of the genus *Cordyceps. Molecular Biology and Evolution* 17: 629-638.
Pegler, D.N., Y.-J. Yao and Y. Li. 1994. The Chinese `caterpillar fungus'. *The Mycologist* 8: 3-5.
Samson, R.A. and H.C. Evans. 1973. Notes on entomogenous fungi from Ghana I. The genera *Gibellula* and *Pseudogibellula. Acta Botanica Neerlandica* 22: 522-528.
Samson, R.A. and H.C. Evans. 1992. New species of *Gibellula* on spiders (Araneida) from South America. *Mycologia* 84: 300-314.
Samson, R.A., H.C. Evans and J.P. Latgé, 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer Heidelberg. pp.189.
Shimizu, D. 1994. Colour iconography of vegetable wasps and plant worms. Seibundo Shinkosha, Japan. pp.381.
Spatafora, J. and M. Blackwell. 1993. Molecular systematics of unitunicate perithecial ascomycetes. The Clavicipitales-Hypocreales connection. *Mycologia* 85: 912-922.
Sullivan, R.F., G.F. Bills, N.L. Hywel-Jones and J.F. White. 2000. *Hyperdermium*: a new clavicipitalean genus for some tropical epibionts of dicotyledenous plants. *Mycologia* 92: 908-918.
Sung, J-M. 1996. *The insects-born fungus of Korea in color*. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd. Korea. pp.299.
Tzean, S. S., L. S. Hsieh and W. J. Wu. 1996. The genus *Gibellula* on spiders from Taiwan. *Mycologia* 89: 309-318.

# Pteridophytes Flora of Khun Korn Waterfall Forest Park, Chiang Rai Province

**Thaweesakdi Boonkerd and Piyapong Ratchata**
Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330

**Abstract:** Khun Korn Waterfall Forest Park is situated in Muang District, Chiang Rai Province, and covers a mountainous area of approximately 18 $km^2$ at 625-1,635 metres above mean sea level. An enumeration of the pteridophytes of this forest park is presented. This is the first report for the area and includes 154 species and 11 infraspecific taxa in 24 families and 66 genera. Collecting has also resulted in two new records, i.e. *Selaginella ciliaris* (Retz.) Spring (Selaginellaceae) and *Dicranopteris linearis* (Burm.f.) Underw. var. *montana* Holttum (Gleicheniaceae) for the flora of Thailand. Furthermore, unusual distributions of fourteen pteridophyte species were discovered. Comparison with other protected areas in the vicinity showed a high diversity in this plant group. However, two endemic fern species originally collected from Chiang Rai province could not be found from this area, and has probably been extispated from the country. Undoubtedly, habitat degradation through human activity has reduced pteridophytes diversity in the park.

**Key words:** Pteridophytes, ferns, fern allies, new records

## Introduction

As a tropical country, Thailand contains between 15,000 and 20,000 species of plants which account for 8-10% of the estimated total number of global plant species (OEPP, 1992; Phengklai, 1989). It is expected that, with continuous site-specific botanical excursions, new species or new records will be found (OEPP, 1996). Thus botanical research in some specific areas of Thailand are needed to add new knowledge to the Flora of Thailand Project (Santisuk et al., 1991).

Being the northernmost province in the Thai kingdom, Chiang Rai is rather suited for this purpose because this province is still rich in plant diversity. Botanical expeditions to Chiang Rai are rather few compared with the neighboring province, i.e. Chiang Mai. A preliminary expedition to Khun Korn Waterfall Forest Park discovered an endemic species of fern, *Lomagramma grossoserrata* Holttum. This fern species is known only from the type collection place in Phrae Province (Tagawa and Iwatsuki, 1988). It is believed that the forest park also houses other endemic species, such as *Antrophyum winitii* Tagawa & K. Iwats. that has been found only once in Chiang Rai (Tagawa and Iwatsuki, 1988). As a result, this research project aimed to explore plant diversity at Khun Korn Waterfall Forest Park with specific reference to the diversity of pteridophytes.

## Study Area

Khun Korn Waterfall Forest Park was established in 1979. It is located on the western side of Mae Lao Forest and on the eastern side of Mae Kok Forest in Muang district, Chiang Rai Province (Fig. 1), which is northwest, about 26 kilometres from the city center. This area occupies parts of Tumbon Mae Korn and Tumbon Huai Chomphu, and has a total area of 18 $km^2$. The park is marked out approximately by the geographical coordinates of 19° 51´-19° 54´ north latitude and 99° 35´-99° 39´ east longitude. It is bounded on the north by Doi Mae Korn at Ban Pang Takhrai and Ban Pang Khon, on the south by Doi Chang and Doi Mae Mon at Ban Li So Mae Mon, on the east by Huai Ya Dee and on the north west by Doi Kia.

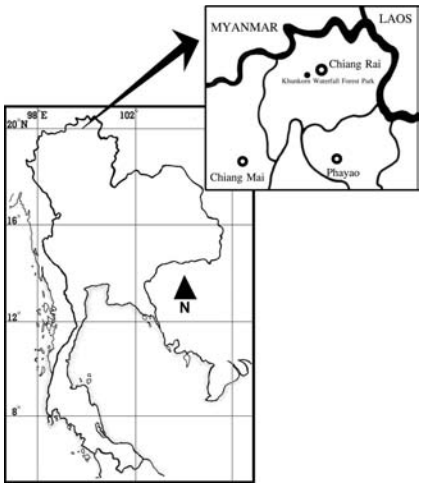


Figure 1. Maps showing the location of Khun Korn Waterfall Forest Park.

Khun Korn Waterfall Forest Park is a mountainous area, lying in the Continental Highlands. Pendelton (1962) (cited in Robbins and Smitinand 1966) described this physiographic region as a southward extension of the Shan Hills of Myanmar. Its elevation varies from about 625 meters above sea level along road number 1208 to 1,635 meters at the summit of Doi Kia.

The climate of the area is monsoonal based upon a strong alternation of wet and dry seasons. The wet-carry northwest monsoon coincides with heavy rain during

August-September. February is the driest month and coincides with the occurrence of the dry northeast monsoon. The Chiang Rai meterological station at 394 m above sea level is the nearest station. The climatological data from 1970-2000 (Meterological Department, 2000) show on average annual rainfall of 1755.3 mm. The annual relative humidity is about 77%, while the highest relative humidity during August-December is 95%. The average annual temperature is about 24.1 °C. The average maximum temperature is about 34.8 °C in April, and the average minimum is 12.0 °C in January (Fig. 2).

According to Smitinand (1977), the vegetation of Khun Korn Waterfall Forest Park can be classified into Moist Upper Mixed Deciduous Forest, Dry Upper Mixed Deciduous Forest and Hill Evergreen Forest. Some parts of the forest park, especially the Hill Evergreen Forest, are disturbed by Hilltribe people.

**Previous Study**

In the past, collections and taxonomic studies of ferns and fern allies in Thailand were performed predominantly by botanists from aboard. Their work contributed greatly to Knowledge of the Pteridophyte Flora of Thailand. The taxonomic surveys of vascular plants that include ferns and fern allies that have been conducted, so far, in northern Thailand are as follows.

During 1902-1932, Dr. A.F.G. Kerr was among the pioneer botanists who explored plant diversity in Thailand. Dr. Kerr collected plant specimens mostly from northern Thailand. His collection numbered about 25,000 specimens, including several type specimens. Most of specimens were sent to Kew Herbarium for identification. At that time, fern materials were studied by Dr. Eryl Smith. Most flowering plants were studied by Dr. W.G. Craib who published his taxonomic work in *Florae Siamensis Enumeratio* based on Dr. Kerr's collection (Larsen, 1979).

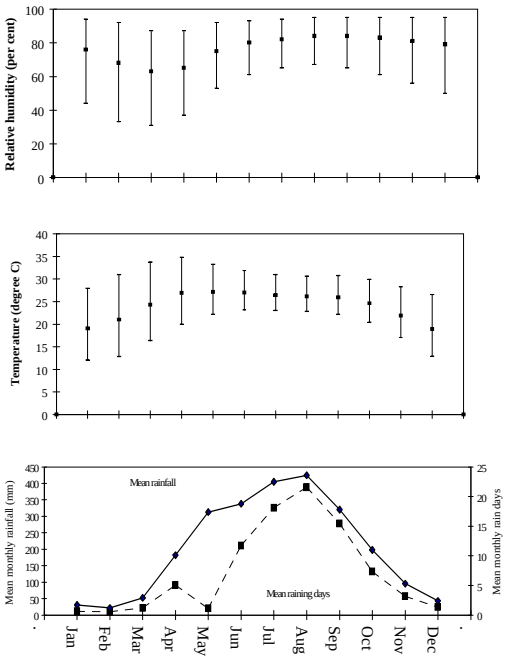



Figure 2. Climatological data during the period, 1970-2000, from Chiang Rai Station at 394 m above sea level (Data from the Department of Meteorology, Bangkok, Thailand).

H.B.G. Garret, an Englishman who worked at the Forest Department during 1902-1951, collected plant specimens from Doi Angka and Doi Chiangdao, Chiang Mai Province. His collection comprised more than 1,500 in number, and now these specimens are deposited at the Bangkok Forest Herbarium (BKF), British Museum (BM), Kew Herbarium (K), and other herbaria in Europe. Unfortunately, most specimens in Europe were destroyed during the Second World War (Larsen, 1979).

In 1904-1905, C.C. Hosseus, a German botanist, collected 830 plant specimens from northern Thailand; most of them were deposited in Munich and others in Berlin, Germany (Larsen, 1979).

In 1912-1920, Phya Wanapruek Phichara (Vanpruk), in cooperation with the Forest Department, Bangkok, collected about 1,200 plant specimens, mainly from northern Thailand. Most specimens were deposited at BKF and K. He published *List of Common Tree and Shrubs of Siam* in 1923 (Larsen, 1979).

During 1914-1931, Phya Winit Wanandorn (To Komes), and other important staff of the Forest Department, collected more than 2,000 specimens, mostly from the north of Thailand (Larsen, 1979).

Between 1919 and 1921, J.F. Rock collected 1,912 plant specimens from northern Thailand in his 3 trips to Chiang Mai. Most of his specimens were deposited at the US National Herbarium (Larsen, 1979).

During 1957-1960, Dr. R.E. Holttum of Kew collaborated in "Studies in the Flora of Thailand". He recorded 157 species of ferns; many of them were reported for the first time, and new species were found. It was the first time that a study of the fern flora of various parts of Thailand was made (Bruun, 1961).

During 1963-1975, Danish botanists, together with Dr. H. Sleumers, Dr. E. Hennipman, Dr. A. Touw, Dr. H.P. Nooteboom, Dr. C.F. van Beusekomd and Dr. R. Geesink, made several visits to Thailand; consequently, 4,200 specimens were collected and deposited in many herbaria in Europe (Hennipman and Touw, 1966).

Other important botanists were G. Seidenfaden and T. Smitinand. G. Seidenfaden, a former Danish ambassador to Thailand, initiated fruitful Thai-Danish cooperation. Expeditions were taken mainly in the North and the Northeast of Thailand, and about 4,000 specimens were collected (Seidenfaden and Smitinand, 1959).

In 1966, J.O. Sawyer and C. Chermsirivatana collected plants from Doi Suthep and Doi Pui in Chiang Mai. Twenty-one genera and 33 species of fern were listed (Sawyer and Chermsirivathana, 1969).

Several expeditions to Thailand were made by Japanese botanists. During 1965-1966, Dr. M. Tagawa and Dr. K. Iwatsuki from Kyoto University collected more than 7,000 specimens of pteridophytes from many provinces of the country. These specimens were deposited at BK, BKF, Kyoto University (KYO), and herbaria in Europe and USA. Their contributions to Pteridophytes were published in the *Flora of Thailand*, Vol. III part 1-4 (see Chayamarit, 1996). A total of 633 species, in 132 genera from 34 families of pteridophytes were enumerated. Twenty five new species were found, and 21 species of these were endemic to Thailand.

Recently, Boonkerd and Pollawatn (2000) compiled data from various sources as well as from their own field trips. Consequently, a check list of ferns and fern allies in Thailand was made. Totals of 671 species, 4 subspecies, 28 varieties in 139 genera from 35 families were enumerated. This checklist included 27 new records for Thailand.

From the above literature review, it can be concluded that botanical survey of pteridophytes in Chiang Rai Province was scarce. Therefore, the continuous site-specific collection of plants should be made in this province.

## Methods

Collections were made from October 1997 until October 1999. Six duplicates of plant specimens were collected along forest trails throughout the study area. Attempts were made to visit all habitats and areas every month so as to ensure accurate records of all species. The families of pteridophytes in this paper are arranged according to Boonkerd and Pollawatn (2000) with the genera listed alphabetically. Voucher specimens have been deposited at the Professor Kasin Suvatabhandhu Herbarium, Department of Botany, Chulalongkorn University (BCU) with complete sets of duplicates at the Forest Herbarium (BKF).

## Results

A total of three hundred and fifty-seven specimens of ferns and fern allies were collected from 15 forest trails. Appendix 1 enumerates 138 species and 11 infraspecific taxa in 62 genera of 21 families of ferns and 16 species in 4 genera of 3 families of fern allies, together with their habits, habitats, and abundance of each species or variety.

## Discussion

### *Pteridophytes versus Habitats*

It was found that ferns and their allies in the study area thrive in various habitats; they are terrestrial, epiphyte, lithophyte or rheophyte (Table 1). Among the collected species, terrestrials were the richest in number (96 species), whilst rheophyte were the least common (1 species). The rheophyte that occurs in this forest park is *Microsorum pteropus*. It is a medium-size fern that usually occupies rocks in streams or waterfalls. During the rainy season it can withstand a flood for a considerable period of time. It is not surprising to note that this rheophyte is very common among water plants in aquaria worldwide. The distinction between terrestrials and lithophytes are not very apparent. As used here, lithophytes grew on top or beside rather bare rocks. These pteridophytes develop fine, extensive root systems, enabling them to penetrate rock crevices where moisture is available. Apparently, terrestrials include species growing on thin layers of soil or over rocks; for example, *Bolbitis heteroclita* (Presl) Ching ex C. Chr., *Bolbitis virens* (Hook. and Grev.) Schott var. *virens*, *Oleandra undulata* (Willd.) Ching and *Microsorum cuspidatum* (D. Don.) Tagawa. and also the fern allies such as *Selaginella minutifolia* Spring. Apart from nine true rock species, two species of ferns were found in two habitats: *Lomagramma grossoserrata* Holttum (terrestrial or lithophyte) and *Drynaria bonii* (epiphyte or lithophyte).

Table 1. The number of Pteridophyte species according to their habitats.

| Group/Habitat | Terrestrial | Epiphyte | Lithophyte | Rheophyte |
|---|---|---|---|---|
| Fern allies | 14 | 2 | 0 | 0 |
| Ferns | 82 | 49 | 9 | 1 |
| Total | 96 | 51 | 9 | 1 |

***Diversity of Pteridophytes and Vegetation***

Moist Upper Mixed Deciduous Forest exists at elevations of 650-800 m. This type of forest is characterized by high air humidity, as well as a shady environment. The soil in the forest is usually loamy, originating from either calcareous or granitic rocks. Such physical environments are preferable for most ferns and fern allies. It is evident that there are 80 species of Pteridophytes found in this forest: 59 terrestrial species, 9 lithophytic species, and 11 epiphytic species. The common ferns and fern ally families are Polypodiaceae (16 species), Thelypteridaceae (13 species), Selaginellaceae (8 species) and Dryopteridaceae (7 species (Figure 3).

Dry Upper Mixed Deciduous Forest is found along the ridges at elevations of 650-800 m. The soil is either sandy loam or lateritic. To sum up, this type of forest is much drier and more exposed than the first one. Moreover, the ground flora in this type of forest is frequently destroyed by fire, especially during January-April. Fifty two species of pteridophytes were collected; including 39 terrestrial species and 13 epiphytic species. They are members of the Polypodiaceae (11 species), Thelypteridaceae (7 species), Parkeriaceae (5 species), Dryopteridaceae (4 species) and Selaginellaceae (4 species), etc. (Fig. 3).

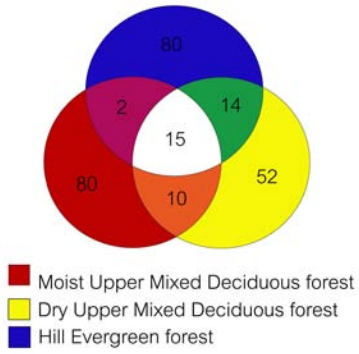



Figure 3. A summary of ferns and fern allies collected in each forest.

Hill Evergreen Forest is confined to upper elevations of 800 m upwards. The soil is either red granitic brown-black calcareous or yellow brown sandy loam. The relative air humidity is rather high, especially over the rainy season. This type of forest is an ideal habitat for epiphytic species. In all, 80 species (Fig. 3) of pteridophytes were found. They comprised 41 species of epiphytes and 39 species of terrestrials. Polypodiaceae (25 species), Dennstaedtiaceae (7 species), Selaginellaceae (6 species) and Davalliaceae (6 species) are among the common families.

***Widespread Species***

Appendix 1 summarizes the pteridophytes of Khun Korn Waterfall Forest Park. The following fifteen species are found throughout the study area; they were distributed over all altitudinal ranges and in all kinds of forests. These widespread species included: *Lygodium flexuosum* (L.) Sw., *Lygodium polystachyum* Wall. ex T. Moore, *Lygodium salicifolium* C. Presl (Schizaeaceae); *Microlepia speluncae* (L.) T. Moore, *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn var. *wightianum* (J. Agardh) R.M. Tryon (Dennstaedtiaceae); *Cibotium barometz* J. Sm. (Dicksoniaceae); *Lindsaea ensifolia* Sw. (Lindsaeaceae); *Adiantum philippense* L. (Adiantaceae); *Asplenium nidus* L. (Aspleniaceae); *Tectaria polymorpha* (Wall. ex Hook.) Copel.(Dryopteridaceea); *Amphineuron terminans* (J. Sm.) Holttum, *Pronephrium lakhimpurense* (Rosenst.) Holttum (Thelypteridaceae); *Aglaomorpha coronans* (Wall. ex Mett.) Copel., *Drynaria parishii* (Bedd.) Bedd., and *Pyrrosia stigmosa* (Sw.) Ching (Polypodiaceae).

***Rarely Found Species***

There were some rarely found species in this study area (see Appendix 1) as they were found only once. These species included: *Botrychium lanuginosum* Wall. ex Hook. and Grev. (Ophioglossaceae); *Tectaria faurei* Tagawa, *Polystichum attenuatum* Tagawa and K. Iwats. (Dryopteridaceae); *Nephrolepis delicatula* (Decne.) Pic.-Serm., *Nephrolepis falcata* (Cav.) C. Chr. (Oleandraceae); *Asplenium macrophyllum* Sw. (Aspleniaceae); *Sphenomeris chinensis* (L.) Maxon var. *divaricata* (H. Christ) K.U. Kramer (Lindsaeaceae); *Blechnum orientale* L., *Woodwardia japonica* (L.f.) Sm. (Blechnaceae); *Diplazium siamense* C. Chr. (Woodsiaceae); *Drynaria rigidula* (Sw.) Bedd. *Phymatosorus cuspidatus* (D. Don) Pic. Serm. (Polypodiaceae). Among these, *Tectaria faurei* Tagawa is a species confined to northern Thailand and its present distribution suggests its membership of Sino-Himalayan elements. Whereas the other species are dispersed throughout the country; they were hardly observed in this study area.

***Endemic Species***

Of the 154 species of Pteridophytes, 4 species endemic to Thailand were found in this study area, i.e. *Selaginella lindhardii* Hieron, *Anthophyum winittii* Tagawa and K. Iwats, *Christella siamensis* Tagawa and K. Iwats. and *Lomagramma grossoserrata* Holttum. *Selaginella lindhardii* Hieron is a small plant, existing naturally in Tak, Bangkok and Ratchaburi. Its present distribution shows a relationship with Indo-Burmese plant groups (Tagawa and Iwatsuki, 1979). *Anthophyum winittii* Tagawa & K. Iwats. was known only from a type specimen which is now kept at the Herbarium and Library, Botanic Gardens, in Singapore. While *Lomagramma grossoserrata* Holttum is known only from the type collection in Phrae Province (Tagawa and Iwatsuki, 1988), this species thrives healthy along the streams or near to waterfalls at altitudes of 650-800 m in Moist Mixed Deciduous Forest. So far, its present distribution is restricted to northern Thailand and it should be a member of Sino-Himalayan elements. Whilst *Christella siamensis* Tagawa & K. Iwats. was collected from Phu Miang in Phetchabun and Phu Luang in Loei (Tagawa and Iwatsuki, 1988), the present distribution of this species reveals its membership of Sino-Himalayan elements.

***New Records***

Included in this study were one species of fern and one species of fern ally which had previously not been recorded in Thailand. The fern ally newly recorded for Thailand was *Selaginella ciliaris* (Retz.) Spring. It is distributed in Mainland China, Taiwan, Philippines, India and Australia. At Khun Korn Waterfall Forest Park, this species is abundant in slightly exposed areas on mountain slopes at 670-800 m altitude. The other new record this time of a fern is *Dicranopteris linearis* (Burm.f.) Underw. var. *montana* Holttum. This newly recorded variety is distributed in Tropical Africa, Asia and Australia. At Khun Korn Waterfall Forest Park, this variety occurs on mountain ridges in rather dry forests, at altitudes of about 950-1,300 m.

***Expected Species***

According to Flora of Thailand, Volume III, part 1-4 (Tagawa and Iwatsuki, 1979, 1985, 1988 and 1989), 155 species of ferns and fern allies were described from Chiang Rai Province. These included 3 species of ferns, namely *Bolbitis tonkinensis* (C. Chr. ex Ching) K. Iwats. (Lomariopsidaceae), *Anthophyum winittii* Tagawa & K. Iwats. (Vittariaceae) and *Cyathea chinensis* Copel. (Cyatheaceae). These three species were only collected from Chiang Rai Province and it was our intention to search for them. Unfortunately, they were not found during the collecting period though effort was made to thoroughly seek them. However, it should be noted that *Bolbitis tonkinensis* (C. Chr. ex Ching) K. Iwats. is one of the very rare species in Thailand since only one collection of this species was made in Chiang Rai at altitudes of 550-950 m (Tagawa and Iwatsuki, 1988). Meanwhile, *Anthophyum winittii* Tagawa & K. Iwats is also a rather rare endemic species, since it is known only from a type specimen. A tree fern, *Cyathea chinensis* Copel. is also a rare species in this country. So far its southernmost limit of distribution is in Chiang Rai Province (Tagawa and Iwatsuki, 1979).

Khun Korn Waterfall Forest Park is one of the mountainous areas where shifting cultivation is still active. The Hill Evergreen Forest and Dry Mixed Deciduous Forest were strongly influenced by hill tribes that conducted shifting agriculture in the past. For the present situation, it is fairly safe to say that no part of the areas has recently been without human influence. In some areas, the hill tribes completely removed the vegetation and replaced it with their cultivation, whereas in other areas some hills were selectively cut of trees, burned, and pastured. The destruction of vegetation was much more permanent in some places than in the others especially in the hill-tribe villages, as shown when it was permitted to return naturally. Due to the deforestation in the study area, it can be assumed that some species of pteridophytes were extirpated as well as some other wild vegetation were completely cleared, probably long before this study had been done.

***New Discovery of Pteridophytes Distribution in Thailand***

Among 154 species and 11 infraspecific taxa collected during this study, 79 taxa had already been recorded for Chiang Rai (Tagawa and Iwatsuki, 1979, 1985, 1988 and 1989), whereas 86 taxa were not recorded in Chiang Rai previously. Some of them are distributed throughout the country, such as *Bolbitis appendiculata* (Willd.) K. Iwats., *Blechnum orientale* L., and *Tectaria angulata* (Willd.) C. Chr.

However, there are 14 species which had never been found in northern Thailand, and they are noteworthy for their existence in the northern floristic region. The first species is *Asplenium*

*macrophyllum* Sw., found in the eastern, south-eastern and peninsular floristic regions. It is known to be distributed in the Tropics of the old world and extends northwards to Tonkin and Taiwan (Tagawa and Iwatsuki, 1985). Hence the new distribution of this species in Thailand is still in agreement with its present geographical distribution.

Another species of *Asplenium*, *Asplenium perakense* Metthew & Christ was recorded only at Khao Luang, Nakhon Si Thamarat Province. Its occurrence in Chiang Rai is rather different from its knowing geographical distribution as noted in Flora of Thailand (Tagawa and Iwatsuki, 1985).

A polypodaceous species, *Belvisia mucronata* (Fée) Copel., was found in Chanthaburi, Nakhon Si Thamarat (Khao Luang), and Yala (Betong). Its familiar distribution is from Sri Lanka to Polynesia, stretching out northwards to Vietnam (Tagawa and Iwatsuki, 1989).

A filmy fern, *Hymenophyllum acanthoides* (van den Bosh) Copel., was recorded in Nakhon Si Thamarat (Khao Luang), and Yala (Betong). Its present distribution is from Indonesia to New Guinea, north to Taiwan. This new distribution of this filmy fern in Thailand is still in accordance with its noted distribution (Tagawa and Iwatsuki, 1979).

An uncommon species of Khun Korn Waterfall Forest Park, *Dicranopteris curranii* Copel., was previously found at Nakhon Nayok (Khao Yai), Ranong (Muang Laen), Trang (Khao Chong), and Yala (Bannang Sta). Tagawa and Iwatsuki (1979) noted its present distribution in Malesia (type from Luzon).

*Diplazium petri* Tard. was formerly collected from Chanthaburi (Khao Soi dao, Pong Nam Ron) and Nakhon Si Thamarat (Khao Luang). Its present distribution is in Indochina, Ryukyu and Taiwan. Accordingly, occurrence of this species in Chiang Rai is in compliance with its noted geographical distribution (Tagawa and Iwatsuki, 1988).

*Diplazium simplicivinium* Holttum was once recorded in Nakhon Rachasima (Sakaerat experimental station), Kanchanaburi (Khao Ngi Yai), Uthai Thani (Ban Rai), Surat Thani (Klong Ton), Nakhon Si Thamarat (Khao Luang), Phangnga (Khao Pok), Trang (Khao Chong), Satun, and Yala (Muang Wing). Its present distribution is in Malaysia and probably in Borneo. This species seems to have a wider distribution, extending northwards to the northernmost province of Thailand (Boonkerd, 1980; Tagawa and Iwatsuki, 1988).

An epiphytic fern, *Lepisorus suboligolepidus* Ching, was previously found only in Loei (Phu Kradueng). Its present distribution is in SW China and Taiwan. So its incidence in Chiang Rai is in accordance with the published geographical distribution (Tagawa and Iwatsuki, 1989).

*Pronephrium glandulosum* (Blume) Holttum was lately recorded only in Yala (Bannang Sata). Tagawa and Iwatsuki (1988) noted its distribution in W. Malesia. Accordingly, Chiang Rai will be the northernmost limit of this species.

*Pteris tripartita* Sw. was formerly collected from Nakhon Ratchasima (Kathok), Trat (Ko Chang), Phangnga (Thap Put), and Yala (Betong, Kue Long Falls). This species is widely distributed in the tropics, and extends southeast to Australia and Polynesia (Tagawa and Iwatsuki, 1985). The presence of this species in Chiang Rai indicates a further extension northwards of its distribution which had never previously been recorded.

*Pyrrosia varia* (Kaulf.) Farw. was lately collected from Nakhon Ratchasima (Pak Thong Chai), Chanthaburi (Takhamao Falls), Kanchanaburi (Wangka), Nakhon Si Thamarat (Khao Luang), Phangnga (Takua Pa), Trang (Khao Chong), Satun (Thung Wa), and Pattani (Bacho). Its present distribution is throughout Malesia and it has been recorded from Polynesia (Tagawa and Iwatsuki, 1989). Khun Korn Waterfall Forest Park is likely to be the northernmost station of this species.

A fern ally species, *Selaginella wallichii* (Hook. & Grev.) Spring, was previously recorded from Ranong (Nam Chuet), Surat Thani (Ban Kop Kaep), Nakhon Si Thamarat (Khiriwong, Khao Luang), and Yala. Its published distribution is in South Myanmar, Indochina, Malaysia, Sumatra and Borneo (Tagawa and Iwatsuki, 1979). So far, Khun Korn Waterfall Forest Park is the northernmost limit of this species.

Another species of filmy fern, *Trichomanes bimarginatum* van den Bosch, was previously recorded from Surat Thani (Khao Nong), Phangnga (Khao Bangto), Nakhon Si Thamarat (Khao Luang), Trang (Khao Chong), and Yala (Khao Kalakhiri). It is widely distributed in SE Asia and in Samoa and Queensland, Australia (Tagawa and Iwatsuki, 1979). So far Chiang Rai Province appears to be the northernmost limit of this species.

*Vittaria angustifolia* Bl. was formerly recorded in Chanthaburi (Khao Soi Dao, Khao Sabap), Nakhon Si Thamarat (Khao Luang), Trang (Khao Chong), Krabi (Phanom Bencha), and Yala (Khao

Kalakhiri, Bla Hat). Its present distribution is throughout Malesia, and extends eastwards to New Caledonia (Tagawa and Iwatsuki, 1985). The result from this study indicates its northernmost limit in Chiang Rai Province.

Among the 14 species mentioned above, their previous absence from northern Thailand may be due partly to inadequate taxonomic studies in northern Thailand in the past. Moreover, some species may have been wiped out from the mountainous areas of the north due to slash-and-burn agriculture, which destroyed the forests, as well as the habitats of these plant groups.

***Comparison of the Pteridophytes found in Chiang Mai and Chiang Rai***

In the past, taxonomic study of plants in the north was usually restricted to some protected areas in Chiang Mai, so the species number of ferns and fern allies in Khun Korn Waterfall Forest Park was compared with Doi Chiang Dao, Doi Inthanon, and Doi Suthep- Pui in Chiang Mai and Doi Luang in Chiang Rai.

*Doi Chiang Dao*

Doi Chiang Dao is situated between latitudes 19º 21-´19º 27´ N. and longitudes 98º 50´-98º 58´ E, and is about 65 km north from central Chiang Mai. It is an eastern outpost of the Upper Tenasserim Range, situated on an almost flat, alluvial plain of about 350 m elevation in the broad valley of the Ping River, covering an area of about 60 $km^2$. In outline, it has steep slopes on all sides, topped by conical peaks. In base plan, it has a horse-shoe shaped valley with very steep slopes and with three peaks arranged side by side. The highest peak is about 2,200 m above sea level. The climate is similar to that of Chiang Mai. The rainy season occurs from May to September, while the highest rainfall is in September. The annual rainfall is about 1,300 mm. The cold and dry season occurs through October to February, and the hot dry season is from March to April (Nanakorn, 1998; Smitinand, 1966).

Ninety eight species in 46 genera from 18 families of ferns and fern allies have been recorded (Nanakorn, 1998). It was found that 87 of these 98 species are also recorded from this study. These species comprised 80 species of fern and 7 species of fern ally.

*Doi Inthanon*

Doi Inthanon is a granitic massif rising to 2,565 m above sea level. It is part of the Thanon Thongchai Range, a southern extension of the Shan Hills of Myanmar. The mountain and surrounding area is about 272 $km^2$. Sandy loam is the predominant soil on the mountain. Doi Inthanon experiences a strongly monsoonal climate. The annual rainfall is about 2,000 mm, most of which is between May-October. The coldest months are December and January when ground frost may cover the exposed ridges near the summit and where a low of –8 ºC has been recorded (Graham, 1991).

A total of 171 species in 67 genera from 24 families of ferns and fern allies has been found (Koyama et al., 1986). Of these, 72 species of ferns and fern allies were in common with the species found in Khun Korn Waterfall Forest Park. They include 62 species of ferns and 10 species of fern allies.

*Doi Suthep-Pui*

Doi Suthep (elevation 1,601 m above sea level) and Doi Pui (1,685 m above sea level) are part of a geologically ancient ridge forming the western boundary of the Ping River Valley and covering an area of 261 $km^2$. The bedrock of the park is almost entirely granitic. The park comprises deciduous and evergreen forest. Annual rainfall of about 2,000 mm is recorded each year, mostly from May to October. The dry season comes between November and March. The average annual temperature, recorded near Phu Phing Palace, is 20 ºC, with maximum and minimum average temperatures of 24 ºC and 17 ºC, respectively (Graham, 1991).

One hundred and sixty nine species in 59 genera and 23 families of pteridophytes have been recorded (Tagawa and Iwatsuki 1979, 1985, 1988 and 1989). Of these, 84 species of ferns and fern allies, also occur in Khun Korn Waterfall Forest Park. They comprise 76 species of ferns and 8 species of fern allies.

*Doi Luang*

Doi Luang National Park is situated between latitudes 19º 02´-19º 43´ N, and longitudes 99º 29´-99º 51´ E, and is about 60 km south from central Chiang Rai. This park covers an area of 1,170 $km^2$. The elevation ranges from 400 m to 1,710 m at the summit of Doi Luang, but 86% of the park lies below 1000 m. The climate is seasonal with a mean annual rainfall of 1270 mm at Phan District.

Vegetation includes Mesic evergreen (4.6%), Evergreen/bamboo (9.3%), Deciduous/bamboo (10.1%), Deciduous+evergreen (25.0%), Dry Dipterocarp (12.8%), Hill evergreen (5.5%) and Xeric evergreen (3%) forests. Degraded areas, open areas and unclassified vegetation are also included and covere about 29.7% of the whole park area (Anusarnsunthorn, et al., 1999).

Eighty seven species in 48 genera from 21 families of pteridophytes have been found (Anusarnsunthorn et al., 1999). Of these, 47 species of ferns and fern allies are also found in Khun Korn Waterfall Forest Park. They comprise 44 species of ferns and 3 species of fern allies.

Of the three protected areas in Chiang Mai, Doi Chiang Dao tends to share the same pteridophyte flora as Khun Korn Waterfall Forest Park as evidenced from the common species found in these areas. About 89 percent of pteridophytes occuring at Doi Chiang Dao also flourish at Khun Korn Waterfall Forest Park. Geographically, these two sites are located in different mountain ranges, but about 95 km apart. In terms of geological features, they differ, though calcareous soil can be found in some parts of the park. Khun Korn Waterfall Forest Park houses a higher species diversity than Chiang Dao despite its smaller area. This discrepancy in species number may due to the difference of habitats. It can be postulated that Chiang Dao, as a limestone mountain, has a more severe environment for pteridophyte life than Khun Korn Waterfall Forest Park.

Khun Korn Waterfall Forest Park and Doi Luang National Park are only the two protected areas in Chiang Rai Province in which botanical inventories have been conducted. These two sites are about 60 km apart. Appendix 2 shows 47 pteridophyte species in common between these two sites. The lowest species number of pteridophytes of Doi Luang National Park (Table 2) may be due in part to the lowest annual rainfall of the five sites and to the vast degraded areas of the park.

***Pteridophytes Diversity***

To evaluate diversity of pteridophtes found in the park, a number of species and genera of vascular plants in some nearby protected areas was compiled. Table 2 shows comparisons, using species/genus ratios of five protected areas in Chiang Mai and Chiang Rai. It can be seen that the species/genus ratio for Khun Korn Waterfall Forest Park is 2.33, whilst the highest and lowest values were observed in Doi Suthep-Pui and Doi Luang, respectively. The approximate values of species /genus ratios for these five sites despite their difference in total areas, may indicate that Khun Korn Waterfall Forest Park is one of the protected areas that is rich in pteridophytes diversity.

Table 2. Summary of pteridophytes diversity in five protected areas.

| Protected area | Geological feature | Altitudes (m) | Total area ($km^2$) | Family Genus Species | Species/ genus ratio |
|---|---|---|---|---|---|
| Doi Chiang Dao[1] | Limestone | 300-2,225 | 60 | 18 46 98 | 2.13 |
| Doi Inthanon[2] | Granite | 300-2,565 | 272 | 24 67 171 | 2.55 |
| Doi Suthep-Pui[3] | Granite | 350-1,685 | 261 | 23 59 169 | 2.86 |
| Doi Luang[4] | Granite, Limestone | 400-1,710 | 1170 | 21 48 87 | 1.81 |
| Khun Korn Waterfall Forest Park | Granite, Limestone | 625-1,635 | 18 | 24 66 154 | 2.33 |

Note: [1] Nanakorn (1998) [2] Koyama et al. (1986) [3] Tagawa and Iwatsuki (1979, 1985, 1988 and 1989) [4] Anusarnsunthorn et al. (1999)

***Miscellaneous Uses***

In this study some species of ferns were recorded by a Thai herbalist as medicinal plants, for example 'wan kip raet', *Angiopteris evecta* (G. Forst.) Hoffm. Rhizomes of this fern are valued for their fever reducing properties. 'Wan kai noi', *Cibotium barometz* (L.) J. Sm., is another medicinal plant; the golden hairs at the apex were used as a styptic for dressing wounds (see Boonkerd, 1996).

The young fronds of 'kut kin', *Diplazium esculentum* (Retz) Sw are locally consumed as a vegetable. The adventitious root from the trunk of 'maha sadam', *Cyathea gigantea* (Wall.ex Hook.) Holttum, was used as orchid media (see Boonkerd, 1996; Tagawa and Iwatsuki; 1979, 1988).

Last but not least, the stipes of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw., *L. polystachyum* Wall. ex Moore and *L. salicifolium* Presl are used commercially for weaving handicrafts such as handbags, jewelry boxes, bangles, fans etc. (see Boonkerd, 1996).

## Conclusions

1. Khun Korn Waterfall Forest Park is one of the protected areas in northern Thailand that is rich in vascular plant diversity.
2. Continuous site-specific survey and collection of plants resulted in finding more new species or varieties.
3. New information on the geographical distribution of plants can be recorded.
4. Attempts should be made to encourage taxonomic studies of both vascular and non-vascular plants in certain specific areas.


## Acknowledgements

This work was supported by the TRF/BIOTEC Special Program for Biodiversity Research and Training Grant BRT 140009. We wish to express our sincere thanks to the curators and staff of the following institutions: BK, BKF, BM and K for their kind permission to study pteridophyte specimens. Our thanks are due to the former and present heads and staff of Khun Korn Waterfall Forest Park for their cooperation during field work.


## References


Anusarnsunthorn, V. et al. 1999. Survey of the species diversity and geographical distribution of vascular plants in Doi Luang National Park, Chiang Rai. Final report, The Biodiversity Research and Training Program (BRT 139029).

Boonkerd, T. 1980. Taxonomic studies of ferns in the Sakaerat area. *SCIRESCU* 5: 225-234.

Boonkerd, T. 1996. Noteworthy Ferns of Thailand: Multimedia CD-ROM. Bangkok: Chulalongkorn University Press.

Boonkerd, T. and R. Pollawatn. 2000. Pteridophytes in Thailand. Bangkok: Office of Environmental Policy and Planning.

Bruun, A.F. 1961. Danish Naturalists in Thailand 1900-1960. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 20: 71-80.

Chayamarit, K. 1996. Progress of Flora of Thailand Project. Paper presented at Queen Sirikit Botanic Garden and Holiday Inn Hotel, Chiang Mai, 18-19 November.

Graham, M. (ed.) 1991. National Parks of Thailand. Bangkok: Thai Wattana Panich.

Hennipman, E. and A. Touw. 1966. Report on the Thai-Dutch Botanical Expedition 1965-1966. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 21(3-4): 269-281.

Koyama, H. et al. 1986. A Preliminary Check list of the Pteridophytes and Dicotyledons of Doi Inthanon. Dep of Bot., Fac of Sci., Japan: Kyoto University.

Larsen, K. 1979. Exploration of the Flora of Thailand. *In* K. Larsen and L.B. Holm-Nielsen (eds.), Tropical Botany. Academic Press, London. pp. 125-133.

Meterological Department. 2000. Climate data for Chiang Rai station, Chiang Rai Province, 1970-2000. Data Processing Subdivision, Climatology Division, Meterological Department, Bangkok.

Nanakorn, W. 1998. Queen Sirikit Botanic Garden. Vol. 5, Bangkok: O.S. Printing House.

OEPP. 1992. Thailand Country Study on Biodiversity. Ministry of Science Technology and Environment, Bangkok, Thailand.

OEPP. 1996. Thailand's Biodiversity. Ministry of Science, Technology and Environment. Bangkok, Thailand.

Phengklai, C. 1989. Dicots of Thailand. *In* Biodiversity of Thailand, Faculty of Science, Chiang Mai University in co-operation with USAID, Chiang Mai. pp. 117-122.

Robbins, R.G. and T. Smitinand. 1966. A Botanical Ascent of Doi Inthanon. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 21: 205-227.

Santisuk, T. et al. 1991. Plant for our future: Botanical Research and Conservation Needs in Thailand. The Chutima Press, Bangkok.

Sawyer, J.O. and C. Chermsirivattan. 1969. Flora of Doi Suthep, Doi Pui Chiengmai, North Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc*. 23: 99-132.

Seidenfaden, G. and T. Smitinand. 1959. The Orchids of Thailand. Part 1, Bangkok: The Siam Society.

Smitinand, T. 1966. The Vegetation of Doi Chiang Dao. A Limestone Massive in Chiang Mai, North Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 21: 93-128.

Smitinand, T. 1977. Vegetation and Ground Cover of Thailand. Department of Forest Biology, Faculty of Forestry, Kasetsart U., Technical Paper No. 1. Mimeogr.

Tagawa, M. and K. Iwatsuki. 1979. Pteridophytes. *In* T. Smitinand and K. Larsen (eds.), Flora of Thailand, Vol.3 Part 1. The Tistr Press, Bangkok.

Tagawa, M. and K. Iwatsuki. 1985. Pteridophytes. *In* T. Smitinand and K. Larsen (eds.), Flora of Thailand, Vol.3 Part 2. The Phonphan Printing, Bangkok.

Tagawa, M. and K. Iwatsuki. 1988. Pteridophytes. *In* T. Smitinand and K. Larsen (eds.), Flora of Thailand, Vol.3 Part 3. The Chutima Press, Bangkok.

Tagawa, M. and K. Iwatsuki. 1989. Pteridophytes. *In* T. Smitinand and K. Larsen (eds.), Flora of Thailand, Vol.3 Part 4. Chutima Press, The Bangkok.

Appendix 1. The Pteridophytes of Khunkorn Waterfall Forest Park. Abbreviations are as follows:
Habit: T= terrestrial herb; E= epiphytic herb; L= lithophytic herb; R= rheophytic herb.
Habitat: 1= Moist Upper Mixed Deciduous Forest; 2= Dry Upper Mixed Deciduous Forest; 3= Hill Evergreen Forest.
Abundance: R= rarely found; UC= uncommon; C= common; A= abundant.

| Family/Species | Habit | Habitat & Abundance |
|---|---|---|
| **Lycopodiaceae** | | |
| *Huperzia hamiltonii* (Spreng.) Trevis. | E | 3, UC |
| *Lycopodiella cernua* (L.) Pic. Serm. | T | 2, C |
| **Selaginellaceae** | | |
| *Selaginella amblyphylla* Alston | T | 1, UC |
| *Selaginella ciliaris* (Retz.) Spring | T | 1, UC |
| *Selaginella delicatula* (Desv. ex Poir.) Alston | T | 3, C |
| *Selaginella helferi* Warb. | T | 2, 3, UC |
| *Selaginella inaequalifolia* (Hook. & Grev.) Spring | T | 1, UC |
| *Selaginella involvens* (Sw.) Spring | E | 3, UC |
| *Selaginella kurzii* Baker | T | 2, 3, UC |
| *Selaginella lindhardii* Hieron. | T | 1, 3, UC |
| *Selaginella minutifolia* Spring | T | 1, 2. UC |
| *Selaginella monospora* Spring | T | 1, UC |
| *Selaginella pennata* (D.Don) Spring | T | 2, 3, UC |
| *Selaginella tenuifolia* Spring | T | 1, UC |
| *Selaginella wallichii* (Hook. & Grev.) Spring | T | 1, UC |
| **Equisetaceae** | | |
| *Equisetum debile* Roxb. ex Vauch. | T | 1, UC |
| **Marattiaceae** | | |
| *Angiopteris evecta* (G. Forst.) Hoffm. | T | 1, C |
| **Ophioglossaceae** | | |
| *Botrychium lanuginosum* Wall. ex Hook. & Grev. | T | 3, R |
| *Ophioglossum petiolatum* Hook. | T | 1, C |
| **Hymenophyllaceae** | | |
| *Hymenophyllum acanthoides* (Bosch) Roscenst. | L | 1, UC |
| *Hymenophyllum exsertum* Wall. ex Hook. | E | 3, UC |
| *Hymenophyllum polyanthos* (Sw.) Sw. | E | 3, C |
| *Trichomanes bimarginatum* Bosch | L | 1, UC |
| **Gleicheniaceae** | | |
| *Dicranopteris curranii* Copel. | T | 2, UC |
| *Dicranopteris linearis* (Burm.f.) Underw. var. *linearis* | T | 2, 3, C |
| *Dicranopteris linearis* (Burm.f.) Underw. var. *montana* Holttum | T | 2, UC |
| **Schizaeaceae** | | |
| *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. | T | 1, 2, 3, C |
| *Lygodium polystachyum* Wall. ex T. Moore | T | 1, 2, 3, C |
| *Lygodium salicifolium* C. Presl | T | 1, 2, 3, C |
| **Dennstaedtiaceae** | | |
| *Hypolepis punctata* (Thunb.) Mett. ex Kuhn | T | 3, UC |
| *Microlepia calvescens* (Wall. ex Hook.) C. Presl | T | 3, C |
| *Microlepia speluncae* (L.) T. Moore | T | 1, 2, 3, C |
| *Microlepia strigosa* (Thunb.) C. Presl | T | 3, C |
| *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn var. *latiusculum* (Desv.) Underw. ex A. Heller | T | 3, A |
| *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn var. *wightianum* (J. Agardh) R.M. Tryon | T | 1, 2, 3, C |
| *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn var. *yarrabense* Domin | T | 2, 3, C |
| **Dicksoniaceae** | | |
| *Cibotium barometz* J. Sm. | T | 1, 2, 3, C |
| **Lindsaeaceae** | | |
| *Lindsaea ensifolia* Sw. | T | 1, 2, 3, C |
| *Sphenomeris chinensis* (L.) Maxon var. *divaricata* (H. Christ) K.U. Kramer | T | 2, R |
| **Cyatheaceae** | | |
| *Cyathea gigantea* (Wall. ex Hook.) Holttum | T | 1, UC |
| **Adiantaceae** | | |
| *Adiantum caudatum* L. | T | 2, UC |
| *Adiantum philippense* L. | T | 1, 2, 3, A |
| *Cheilanthes belangeri* (Bory in Belang.) C. Chr. | T | 2, C |
| *Cheilanthes tenuifolia* (Burm.f.) Sw. | T | 2, C |
| *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link | T | 2, C |
| **Pteridaceae** | | |

| | | |
|---|---|---|
| *Pteris aspericaulis* Wall. ex. J. Agardh | T | 3, UC |
| *Pteris asperula* J. Sm. | T | 1, UC |
| *Pteris biaurita* L. | T | 1, 2, C |

Appendix 1. (cont.)

| Family/Species | Habit | Habitat & Abundance |
|---|---|---|
| *Pteris linearis* Poiret | T | 3, UC |
| *Pteris longipes* D. Don | T | 1, UC |
| *Pteris tripartita* Sw. | T | 3, UC |
| *Pteris venusta* Kunze | T | 2, 3, C |
| *Pteris wallichiana* J. Agardh | T | 1, UC |
| *Pteris vittata* L. | T | 1, 2, C |
| **Vittariaceae** | | |
| *Antrophyum callifolium* Blume | E | 1, 2, UC |
| *Vittaria angustifolia* Blume | E | 3, C |
| *Vittaria sikkimensis* Kuhn | E | 3, C |
| **Aspleniaceae** | | |
| *Asplenium macrophyllum* Sw. | L | 1, R |
| *Asplenium nidus* L. | E | 1, 2, 3, C |
| *Asplenium obscurum* Blume | L | 1, UC |
| *Asplenium perakense* B. Mathew & H. Christ | T | 3, UC |
| *Asplenium unilaterale* Lamk. | L | 1, UC |
| *Asplenium yoshinagae* Makino | T | 3, C |
| **Blechnaceae** | | |
| *Blechnum orientale* L. | T | 2, R |
| *Brainea insignis* (Hook.) J. Sm. | T | 2, 3, C |
| *Woodwardia japonica* (L.f.) Sm. | T | 3, R |
| **Lomariopsidaceae** | | |
| *Bolbitis appendiculata* (Willd.) K. Iwats. subsp. *vivipara* (Hamilt. ex Hook.) Hennipman | L | 1, C |
| *Bolbitis heteroclita* (C. Presl) Ching | T | 1, C |
| *Bolbitis sinensis* (Baker) K. Iwats. var. *costulata* (Hook.) Tagawa & K. Iwats. | T | 1, C |
| *Bolbitis virens* (Wall. ex Hook. & Grev.) Schott var. *virens* | T | 1, A |
| *Elaphoglossum stelligerum* (Wall. ex Baker in Hook. & Baker) T. Moore ex Alston & Bonner | E | 3, C |
| *Elaphoglossum yoshinagae* (Yatabe) Makino | E | 3, UC |
| *Lomagramma grossoserrata* Holttum | T, L | 1, C |
| **Woodsiaceae** | | |
| *Athyrium dissitifolium* (Baker) C. Chr. | T | 3, UC |
| *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. | T | 1, C |
| *Diplazium leptophyllum* Baker ex H. Christ | T | 1, UC |
| *Diplazium muricatum* (Mett.) Alderw. | T | 1, UC |
| *Diplazium petri* Tardieu | T | 1, UC |
| *Diplazium polypodioides* Blume | T | 1, UC |
| *Diplazium siamense* C. Chr. | T | 1, R |
| *Diplazium simplicivenium* Holttum | T | 3, UC |
| *Kuniwatsukia cuspidata* (Bedd.) Pichi-Serm. | T | 3, UC |
| **Dryopteridaceae** | | |
| *Arachniodes henryi* (H. Christ) Ching | T | 2, 3, UC |
| *Dryopteris cochleata* (D. Don.) C. Chr. | T | 2, 3, C |
| *Pteridrys cnemidaria* (H. Christ) C. Chr. & Ching | T | 1, A |
| *Polystichum attenuatum* Tagawa & K. Iwats. | T | 3, R |
| *Tectaria angulata* (Willd.) C. Chr. | T | 1, C |
| *Tectaria devexa* (Kunze ex Mett.) Copel. | T | 1, UC |
| *Tectaria fauriei* Tagawa | T | 1, R |
| *Tectaria fuscipes* (Wall. ex Bedd.) C. Chr. | T | 1, UC |
| *Tectaria impressa* (Wall. ex Hook.) C. Chr. | T | 1, 2, UC |
| *Tectaria polymorpha* (Wall. ex Hook.) Copel. | T | 1, 2, 3, C |
| **Thelypteridaceae** | | |
| *Amphineuron terminans* (J. Sm.) Holttum | T | 1, 2, 3, C |
| *Christella arida* (D. Don) Holttum | T | 1, UC |
| *Christella crinipes* (Hook.) Holttum | T | 1, UC |
| *Christella dentata* (Forssk.) Holttum | T | 1, C |
| *Christella papilio* (C. Hope) Holttum | T | 1, UC |
| *Christella parasitica* (L.) H. Lev. | T | 2, UC |
| *Christella siamensis* Tagawa & K. Iwats. | T | 3, UC |
| *Christella subelata* (Baker) Holttum | T | 1, 2, UC |
| *Cyclosorus hirtisorus* (C. Chr.) Ching | T | 2, 3, UC |
| *Macrothelypteris ornata* (J. Sm.) Ching | T | 1, UC |

| | | |
|---|---|---|
| *Macrothelypteris torresiana* (Gaudich.) Ching | T | 1, UC |
| *Pronephrium asperum* (C. Presl) Holttum | T | 1, 2, UC |
| *Pronephrium glandulosum* (Blume) Holttum | T | 1, UC |
| *Pneumatopteris truncata* (Poir.) Holttum | T | 1, C |

Appendix 1. (cont.)

| Family/Species | Habit | Habitat & Abundance |
|---|---|---|
| *Pronephrium lakhimpurense* (Rosenst.) Holttum | T | 1, 2, 3, C |
| *Pronephrium nudatum* (Roxb.) Holttum | T | 1, 2, A |
| **Davalliaceae** | | |
| *Araiostegia pseudocystopteris* (Kunze) Copel. | E | 3, C |
| *Araiostegia pulchra* (D. Don) Copel. | E | 3, C |
| *Davallia trichomanoides* Blume var. *lorrainii* (Hance) Holttum | E | 3, C |
| *Davallia trichomanoides* Blume var. *trichomanoides* | E | 3, C |
| *Humata repens* (L. f.) J. Small ex Diels | E | 2, 3, C |
| *Leucostegia immersa* C. Presl | E | 3, UC |
| **Oleandraceae** | | |
| *Nephrolepis delicatula* (Decne.) Pic.-Serm. | E | 3, R |
| *Nephrolepis falcata* (Cav.) C. Chr. | L | 1, R |
| *Oleandra undulata* (Willd.) Ching | T | 2, 3, A |
| **Polypodiaceae** | | |
| *Aglaomorpha coronans* (Wall. ex Mett.) Copel. | E | 1, 2, 3, UC |
| *Arthromeris amplexifolia* (H. Christ) Ching | E | 3, UC |
| *Belvisia mucronata* (Fée) Copel. | E | 1, 3, UC |
| *Belvisia henryi* (Hieron. ex C. Chr.) Raymond | E | 1, 2, UC |
| *Colysis pothifolia* (Buch.-Ham. ex D. Don) C. Presl | T | 1, UC |
| *Crypsinus cruciformis* (Ching) Tagawa | E | 3, UC |
| *Crypsinus oxylobus* (Wall. ex. Kunze) Sledge | E | 3, C |
| *Drynaria bonii* H. Christ | E, L | 1, UC |
| *Drynaria parishii* (Bedd.) Bedd. | E | 1, 2, 3, A |
| *Drynaria propingua* (Wall. ex Mett.) J. Sm. ex Bedd. | E | 3, C |
| *Drynaria rigidula* (Sw.) Bedd. | E | 3, R |
| *Goniophlebium amoenum* (Wall. ex Mett.) J. Sm. ex Bedd. | E | 3, UC |
| *Goniophlebium argutum* J. Sm. ex Hook. | E | 3, UC |
| *Lemmaphyllum carnosum* (Hook.) C. Presl | E | 1, UC |
| *Lepisorus contortus* (H. Christ) Ching | E | 3, UC |
| *Lepisorus heterolepis* (Rosenst.) Ching | E | 3, UC |
| *Lepisorus nudus* (Hook.) Ching | E | 3, C |
| *Lepisorus scolopendrium* (Buch.-Ham. ex D. Don) Mehra & Bir | E | 3, UC |
| *Lepisorus subconfluens* Ching | E | 3, UC |
| *Lepisorus suboligolepidus* Ching | E | 3, UC |
| *Leptochilus decurrens* Blume | T | 1, C |
| *Loxogramme chinensis* Ching | E | 3, UC |
| *Loxogramme involuta* (D. Don) C. Presl | E | 3, UC |
| *Microsorum membranaceum* (D. Don) Ching | E | 3, UC |
| *Microsorum pteropus* (Blume) Copel | R | 1, U |
| *Microsorum punctatum* (L.) Copel. | E | 1, 2, C |
| *Microsorum rubidum* (Kunze) Copel. | T | 1, UC |
| *Microsorum zippelii* (Blume) Ching | E | 1, UC |
| *Phymatosorus cuspidatus* (D. Don) Pic. Serm. | T | 1, R |
| *Platycerium holttumii* Jonch. & Hennipman | E | 1, 2, UC |
| *Platycerium wallichii* Hook. | E | 2, 3, C |
| *Pyrrosia adnescens* (Sw.) Ching | E | 2, C |
| *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell. var. *heteractis* Hovenkamp | E | 3, C |
| *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell. var. *lingua* | E | 2, 3, C |
| *Pyrrosia mannii* (Giesenh.) Ching | E | 3, UC |
| *Pyrrosia mollis* (Kunze) Ching | E | 2, C |
| *Pyrrosia nuda* (Giesenh.) Ching | E | 2, C |
| *Pyrrosia stigmosa* (Sw.) Ching | E | 1, 2, 3, C |
| *Pyrrosia tokinensis* (Giesenh.) Ching | E | 3, UC |
| *Pyrrosia varia* (Kaulf.) Farw. | L | 1, UC |

Appendix 2. Pteridophytes in common between Khunkorn Waterfall Forest Park and Doi Luang National Park, Chiang Rai.

| Family/Species | Habit |
|---|---|
| **Selaginellaceae** | |
| *Selaginella helferi* Warb. | T |
| *Selaginella minutifolia* Spring | T |
| **Equisetaceae** | |
| *Equisetum debile* Roxb. ex Vauch. | T |
| **Schizaeaceae** | |
| *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. | T |
| *Lygodium polystachyum* Wall. ex T. Moore | T |
| **Dennstaedtiaceae** | |
| *Microlepia speluncae* (L.) T. Moore | T |
| *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn var. *wightianum* (J. Agardh) R.M. Tryon | T |
| **Dicksoniaceae** | |
| *Cibotium barometz* J. Sm. | T |
| **Lindsaeaceae** | |
| *Lindsaea ensifolia* Sw. | T |
| **Adiantaceae** | |
| *Adiantum philippense* L. | T |
| *Cheilanthes tenuifolia* (Burm.f.) Sw. | T |
| **Pteridaceae** | |
| *Pteris biaurita* L. | T |
| *Pteris venusta* Kunze | T |
| *Pteris vittata* L. | T |
| **Aspleniaceae** | |
| *Asplenium obscurum* Blume | L |
| *Asplenium yoshinagae* Makino | T |
| **Blechnaceae** | |
| *Brainea insignis* (Hook.) J. Sm. | T |
| *Woodwardia japonica* (L.f.) Sm. | T |
| **Lomariopsidaceae** | |
| *Bolbitis appendiculata* (Willd.) K. Iwats. subsp. *vivipara* (Hamilt. ex Hook.) Hennipman | L |
| *Bolbitis virens* (Wall. ex Hook. & Grev.) Schott var. *virens* | T |
| **Woodsiaceae** | |
| *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. | T |
| *Kuniwatsukia cuspidata* (Bedd.) Pichi-Serm. | T |
| **Dryopteridaceae** | |
| *Arachniodes henryi* (H. Christ) Ching | T |
| *Dryopteris cochleata* (D. Don.) C. Chr. | T |
| *Pteridrys cnemidaria* (H. Christ) C. Chr. & Ching | T |
| *Tectaria impressa* (Wall. ex Hook.) C. Chr. | T |
| **Thelypteridaceae** | |
| *Amphineuron terminans* (J. Sm.) Holttum | T |
| *Christella crinipes* (Hook.) Holttum | T |
| *Christella parasitica* (L.) H. Lev. | T |
| *Christella siamensis* Tagawa & K. Iwats. | T |
| *Christella subelata* (Baker) Holttum | T |
| *Pronephrium nudatum* (Roxb.) Holttum | T |
| **Davalliaceae** | |
| *Humata repens* (L. f.) J. Small ex Diels | E |
| **Oleandraceae** | |
| *Oleandra undulata* (Willd.) Ching | T |
| **Polypodiaceae** | |
| *Aglaomorpha coronans* (Wall. ex Mett.) Copel. | E |
| *Crypsinus oxylobus* (Wall. ex. Kunze) Sledge | E |
| *Drynaria bonii* H. Christ | E, L |
| *Drynaria propingua* (Wall. ex Mett.) J. Sm. ex Bedd. | E |
| *Drynaria rigidula* (Sw.) Bedd. | E |
| *Goniophlebium amoenum* (Wall. ex Mett.) J. Sm. ex Bedd. | E |
| *Lepisorus nudus* (Hook.) Ching | E |
| *Microsorum pteropus* (Blume) Copel | R |
| *Microsorum punctatum* (L.) Copel. | E |
| *Platycerium wallichii* Hook. | E |
| *Pyrrosia adnescens* (Sw.) Ching | E |
| *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell. var. *lingua* | E |
| *Pyrrosia stigmosa* (Sw.) Ching | E |

Abbreviations are as follows: Habit: T= terrestrial herb, E= epiphytic herb, L= lithophytic herb and R= rheophytic herb

# การศึกษาอนุกรมวิธานของพรรณไม้บางวงศ์ในประเทศไทย

**ประนอม จันทรโณทัย, จรัล ลีรติวงศ์, ประภาพร ทับทิมทอง, ภาสกร บุญชาลี, มณฑล นอแสงศรี, วิไลวรรณ มหูศิลป์, สุทธิรา ขุมกระโทก, สุรพล แสนสุข และอมรรัตน์ ประจักษ์สูตร์**

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง ขอนแก่น 40002

**Abstract: Taxonomic Studies on some Plant Families in Thailand**

Taxonomic studies on *Polyalthia*, *Clerodendrum*, *Vitex*, *Phyllanthus* and *Trigonostemon* in Thailand, on *Eriocaulon* and *Polygonum* in the northeast and on Commelinaceae, Poaceae and Zingiberaceae in Phu Phan National Park were conducted between 1996 and 2000. Specimens were collected and studied. We recognize 28 species in *Polyalthia*, 35 in *Clerodendrum*, 16 in *Vitex*, 34 in *Phyllanthus*, 13 in *Trigonostemon*, six genera and 21 species in Commelinaceae, 57 genera and 89 species in Poaceae and 9 genera and 45 species in Zingiberaceae. Keys, descriptions and ecological information are provided for all taxa. Three species are new to science: *Boesenbergia baimaii* S. Saensouk and Larsen, *Eriocaulon pseudoescape* A. Prajaksood and Chantar. and *Phyllanthus chayamaritae* Chantar. Nineteen species new to Thailand have been found and another 23 species are expected to be new species. Pollen, anatomy, chromosome and numerical taxonomy were studied in some plant groups. The data provide both good and not good evidence for classification in each group.

**Key words:** *Polyalthia, Clerodendrum, Vitex*

## บทนำ

ประเทศไทยศึกษาความหลากหลายของพืชและตีพิมพ์เป็นหนังสือพรรณพฤกษชาติเล่มแรกในปี พ.ศ.2513 ในขณะที่ประเทศอื่นๆ ในภูมิภาคเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ได้ตีพิมพ์กันมานานแล้ว การทำหนังสือพรรณพฤกษชาติเป็นงานค้นคว้าที่ใช้เวลานาน ต้องมีตัวอย่างพรรณไม้แห้งสำหรับศึกษาอ้างอิงซึ่งได้จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างพรรณพฤกษชาติทั่วประเทศเป็นเวลานานติดต่อกันนับครั้งไม่ถ้วน เพื่อให้ได้จำนวนตัวอย่างทั่วทุกพื้นที่เป็นตัวแทนชนิดพืชที่ต้องการศึกษา (ธวัชชัย, 2532) พรรณพืชที่มีท่อลำเลียงของไทยที่สำรวจพบเป็นพืชมีเมล็ดประมาณ 245 วงศ์ 1,763 สกุล 9,002 ชนิด คาดว่าเมื่อมีการสำรวจและศึกษาทบทวนพรรณไม้เพิ่มเติม จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นไม่ต่ำกว่า 10,000 ชนิด (จำลอง, 2532) พืชสกุลพนมสวรรค์ (*Clerodendrum* L.) พืชสกุลยางโอน (*Polyalthia* Blume) และพืชสกุลเอื้องเพ็ดม้า (*Polygonum* L.) พบว่าไม่มีรายงานการศึกษาอย่างละเอียดมาก่อน กล่าวคือ ไม่มีการบรรยายลักษณะพืชตามหลักอนุกรมวิธานและการสร้างรูปวิธานซึ่งเป็นสิ่งสำคัญอย่างหนึ่งในการตรวจระบุชื่อพืช มีการสำรวจและรายงานชื่อพืชเฉพาะพื้นที่เท่านั้น การศึกษาพืชวงศ์กระดุมเงิน (Eriocaulaceae) ในประเทศไทย โดย Satake (1974) พบว่าจำนวนชนิดที่รายงานไว้น้อยกว่าความเป็นจริงและน้อยกว่ารายชื่อพืชที่เคยมีรายงานมาก่อนมาก สำหรับพืชสกุลตีนนก (*Vitex* L.) แม้ว่า Fletcher (1938) จะสร้างรูปวิธานไว้ แต่เป็นข้อมูลที่เก่ามากกว่า 70 ปี นอกจากนี้พืชสกุลมะขามป้อม (*Phyllanthus*) และพืชสกุลโลดทะนง (*Trigonostemon*) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เปล้า (Euphorbiaceae) ซึ่งมีรายงาน โดย Airy Shaw (1971) แต่พบว่าเป็นข้อมูลเมื่อ 30 ปีที่แล้ว จึงควรทำการศึกษาพรรณไม้ดังกล่าวอย่างละเอียด โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ เรณูวิทยา โครโมโซม และ numerical taxonomy

พืชสกุลพนมสวรรค์ เดิมจัดอยู่ในวงศ์ไม้สัก (Verbenaceae) แต่ปัจจุบันจัดเป็นพืชในวงศ์กะเพรา (Lamiaceae) (Cantino et al., 1992) Craib (1912) บันทึกรายชื่อพืชสกุลนี้ไว้เพียง 8 ชนิด ในหนังสือการกระจายพรรณของพืชใบเลี้ยงคู่ในประเทศไทยในปี ค.ศ.1938 Fletcher รายงานจำนวน 20 ชนิด 2 พันธุ์ ในขณะที่ Moldenke (1949) รายงานเพียง 18 ชนิด 3 พันธุ์ จนกระทั่งในปี พ.ศ.2523 เต็ม สมิตินันท์ ได้รายงานในหนังสือพรรณไม้แห่งประเทศไทยไว้ 19 ชนิด 3 พันธุ์

ปี ค.ศ.1931 Craib พบพืชสกุลยางโอนในประเทศไทยจำนวน 14 ชนิด ในขณะที่ Suvatti (1978) รายงานไว้เพียง 7 ชนิด ต่อมาในปี พ.ศ. 2523 เต็ม สมิตินันท์รายงานในหนังสือพรรณไม้แห่งประเทศไทยไว้ 15 ชนิด

ปี ค.ศ.1912 Craib รายงานพืชสกุลเอื้องเพ็ดม้าในประเทศไทยเป็นครั้งแรก จำนวน 8 ชนิด ต่อมาในปี ค.ศ.1961 Larsen ได้รายงานไว้ 11 ชนิด แต่ Suvattii (1978) รายงานเพียง 8 ชนิด จนกระทั่ง เต็ม (2523) ได้รวบรวมรายชื่อและรายงานไว้ถึง 16 ชนิด

การศึกษาพืชสกุลตีนนกในประเทศไทยมีรายงานในปี ค.ศ.1912 โดย Craib พบพืชสกุลนี้ 5 ชนิด ต่อมาในปี ค.ศ.1938 Fletcher ได้สร้างรูปวิธานจำแนกชนิดพืชสกุลนี้ไว้ 16 ชนิด 2 พันธุ์ Moldenke (1971) รายงานไว้ถึง 15 ชนิด 8 พันธุ์ แต่ Suvatti (1978) และเต็ม (2523) รายงานพืชสกุลนี้ไว้เพียง 13 ชนิด

พืชวงศ์กระดุมเงินในประเทศไทยมีรายงานโดย Schmidt (1904) รายงานชื่อพืชสกุลนี้ในหนังสือพรรณพฤกษชาติเกาะช้าง (Flora of Koh Chang) จังหวัดตราดไว้ 1 ชนิด คือ *E. quinquangulare* ต่อมา Craib (1912) ได้รายงานในหนังสือพรรณพฤกษชาติสยาม (Flora of Siam) 1 ชนิด คือ *E. luzulaefolium* จนกระทั่งในปี ค.ศ.1954 Moldenke รายงานพืชชนิดใหม่ของโลกซึ่งพบในประเทศไทย 1 ชนิด คือ *E. siamense* ในปี ค.ศ.1955 Koyama รายงานถึงพืชชนิดใหม่ของโลกซึ่งพบในประเทศไทย 3 ชนิด คือ *E. lepidum*, *E. nakayense* และ *E. xenopodion* ปี ค.ศ.1969 Hansen รายงานพืชชนิดใหม่ของโลกซึ่งพบในประเทศไทย 1 ชนิด คือ *E. escape* อีก 3 ปีต่อมา Moldenke (1971) จึงได้รวบรวมรายชื่อพืชสกุลนี้ทั่วโลกและระบุว่าประเทศไทยมีทั้งสิ้น 31 ชนิด 32 แทกซา แต่ Satake (1974) ศึกษาพืชสกุลนี้ในประเทศไทยและรายงานไว้เพียง 8 ชนิด 10 แทกซา ซึ่งเป็นพืชชนิดใหม่ของโลกถึง 6 ชนิด 7 แทกซา ในขณะที่ เต็ม (2523) ได้รวบรวมรายชื่อพืชสกุลนี้ในประเทศไทย จำนวน 8 ชนิด สอาด และคณะ (2525) ได้รายงานชื่อพืชสกุลนี้ในหนังสือชื่อพรรณไม้เมืองไทยเพียง 7 ชนิด

Airy Shaw (1971) รายงานพืชสกุลมะขามป้อมที่มีในประเทศไทยไว้ 32 ชนิด และพืชสกุลโลดทะนง 14 ชนิด ในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน ไม่มีรายงานการศึกษาพืชวงศ์ผักปราบ และพืชวงศ์หญ้า อย่างไรก็ตาม Suvatti (1978) ได้รายงานพืชวงศ์ผักปราบที่พบในประเทศไทยไว้ 7 สกุล 13 ชนิด ต่อมา เต็ม (2523) ได้รายงานไว้ถึง 11 สกุล 20 ชนิด สำหรับพืชวงศ์หญ้า ซึ่งเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศนั้น Bor (1962) ได้รวบรวมรายชื่อเป็นครั้งแรก จำนวน 18 เผ่า 85 สกุล 187 ชนิด ต่อมามีนักวิชาการหลายท่านศึกษาพืชวงศ์มากขึ้นโดยจำกัดการศึกษาเฉพาะพื้นที่ เฉพาะสกุล เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครอบคลุมมากที่สุด (มณฑล, 2543) เช่นเดียวกับพืชวงศ์ขิงซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ Smitinand (1961) ได้รวบรวมรายชื่อพืชวงศ์นี้ที่พบในประเทศไทยเป็นครั้งแรก 7 สกุล 5 ชนิด ต่อมา Larsen ได้ศึกษาและรวบรวมรายชื่อตั้งแต่ปี ค.ศ.1962-1999 พบพืชวงศ์นี้ในประเทศไทย 4 เผ่า 27 สกุล ประมาณ 250 ชนิด (สุรพล, 2543) ถึงแม้ว่า พงศธร (2533) ได้รายงานอนุกรมวิธานของพืชวงศ์นี้ในอุทยานแห่งชาติภูพานไว้ 7 สกุล 16 ชนิด แต่เป็นรายงานการศึกษาเฉพาะเขตตำบลห้วยยาง อำเภอเมือง จังหวัดสกลนครเท่านั้น ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติม โดยมีวัตถุประสงค์ดังนี้

1. ศึกษาสัณฐานวิทยา และอนุกรมวิธานของพืช โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 กลุ่ม ตามพื้นที่ ได้แก่
   1.1 ศึกษาทบทวนพรรณไม้ในระดับประเทศ กลุ่มพืชที่ศึกษา ได้แก่ พืชสกุลยางโอน สกุลพนมสวรรค์ สกุลตีนนก สกุลมะขามป้อม และสกุลโลดทะนง
   1.2 ศึกษาพรรณไม้ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ กลุ่มพืชที่ศึกษา ได้แก่ สกุลกระดุมเงินและเอื้องเพ็ดม้า
   1.3 ศึกษาพรรณไม้ในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน จังหวัดสกลนครและกาฬสินธุ์ กลุ่มที่ศึกษา ได้แก่ พืชวงศ์ผักปราบ วงศ์หญ้า และวงศ์ขิง
2. ทราบจำนวนชนิดของพืชในพื้นที่ที่ศึกษา
3. สร้างรูปวิธานจำแนกสกุล หรือชนิด
4. ศึกษาสัณฐานวิทยาของเรณูของพืช
5. ศึกษากายวิภาคศาสตร์ของพืชบางกลุ่ม
6. ศึกษาโครโมโซมของพืชบางกลุ่ม
7. ศึกษาทางด้าน numerical taxonomy ของพืชบางกลุ่ม
8. ได้ข้อมูลทางด้านนิเวศวิทยาของกลุ่มพืชที่ศึกษา
9. เป็นแนวทางในการศึกษาทบทวนพืชวงศ์เหล่านี้ในประเทศไทยต่อไป

## วิธีการ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชในขอบเขตพื้นที่ที่กำหนด ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชที่อยู่ในพิพิธภัณฑ์พืช และที่เก็บจากภาคสนาม โดยบรรยายพืชตามหลักการทางอนุกรมวิธาน วาดภาพลายเส้นของลักษณะพืช และองค์ประกอบดอก ผล และเมล็ด บันทึกภาพลักษณะวิสัย ช่อดอก ดอก และสภาพนิเวศวิทยา ศึกษาข้อมูลจากเอกสารเพื่อใช้ในการระบุพืช สร้างรูปวิธานสกุลและชนิด จัดทำแผนที่การกระจายพรรณของพืชในประเทศไทย

เตรียมเรณูจากตัวอย่างพืชแห้ง และผ่านวิธีแอลกอฮอล์ วิธีอัลคาไลด์ วิธีอะซิโตไลซิส วิธีไซลีน ขึ้นกับกลุ่มพืชที่ศึกษา ผนึกเรณูลงบนสไลด์โดยใช้สารดีพีเอกซ์ (DPX) หรือซิลิโคนออยล์ แล้วนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด บันทึกลักษณะรูปร่างและวัดความยาวและความกว้างของเรณู ผนังชั้นนอก ลักษณะและจำนวนช่องเปิด ตัวอย่างสไลด์เก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ศึกษากายวิภาคศาสตร์ของพืช จาก 2 กรรมวิธี คือ 1) กรรมวิธีลอกผิว เพื่อศึกษาเนื้อเยื่อชั้นผิว โดยฆ่าและรักษาเซลด้วยสารละลาย FAA ร้อยละ 70 แยกชั้นเซลด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 10 ฟอกขาวเนื้อเยื่อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ร้อยละ 5 และย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยสีซาฟรานิน ร้อยละ 1 ในน้ำ ล้างสีพร้อมดึงน้ำออกด้วยเอทิลแอลกอฮอล์และไซลีน ผนึกสไลด์ด้วยพีดีเอ็กซ์ และ 2) กรรมวิธีพาราฟิน เพื่อศึกษาระบบเนื้อเยื่อต่างๆ ตามภาคตัดขวางของโครงสร้างของพืช โดยฆ่าและรักษาเซลด้วยสารละลาย FAA ร้อยละ 70 ย้อมด้วยสีฟาสต์กรีน และสีซาฟรานิน ล้างสีและดึงน้ำออกด้วยเอทิลแอลกอฮอล์และไซลีน ผนึกสไลด์ด้วยพีดีเอ็กซ์ จากนั้นวิเคราะห์และบันทึกผลการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงติดกล้องถ่ายภาพ

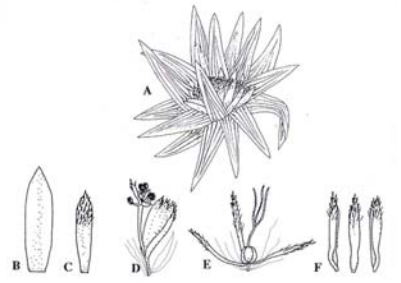
ศึกษาโครโมโซมของปลายรากพืชด้วยวิธี Feulgen squash (Darlington and La Cour, 1966) ย้อมด้วยสีแอซิโตนออซีน ยาขอบกระจกปิดสไลด์ด้วยยาทาเล็บ นำไปตรวจวิเคราะห์โครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง นับจำนวนโครโมโซมและวาดรูปเซล โครโมโซม และถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงติดกล้องถ่ายภาพ

ศึกษาทางด้าน numerical taxonomy โดยวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา 30 ค่าต่อลักษณะ จากจำนวน 10 ประชากรของพืช ซึ่งศึกษาจากพืชที่เก็บจากภาคสนามและตัวอย่างพืชจากพิพิธภัณฑ์ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์โดยใช้ชุดโปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SPSS/PC+ for window

## ผลการวิจัย

จากการศึกษาอนุกรมวิธานของพรรณไม้บางวงศ์ในประเทศไทย ได้ค้นพบข้อมูลใหม่สำหรับการศึกษาพรรณพฤกษชาติของประเทศดังนี้

**1. ด้านสัณฐานวิทยาและอนุกรมวิธานของพืช** ได้บรรยายลักษณะสกุลและชนิดของพืชทุกชนิดที่ศึกษาอย่างละเอียด และสร้างรูปวิธานจำแนกสกุลและชนิด นอกจากนี้ได้ศึกษาและตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์และชื่อพ้องของพืชที่ศึกษา และดำเนินการให้ถูกต้องตามหลักอนุกรมวิธาน ซึ่งสรุปกลุ่มพืชที่ศึกษาสำเร็จแล้ว ได้แก่




ภาพที่ 1. *Eriocaulon pseudoescape.* A) ลักษณะวิสัยx4 B) ใบประดับ x10 C) ใบประดับดอก x10 D) เกสรเพศเมียและกลีบรวมชั้นใน x10 E) ดอกเพศผู้ x10 F) กลีบรวมชั้นนอกของดอกเพศเมีย x10

1.1 ศึกษาทบทวนพรรณไม้ในระดับประเทศ: พืชสกุลยางโอน 28 ชนิด 3 พันธุ์ (ภาสกร, 2544) สกุลพนมสวรรค์ 35 ชนิด 1 พันธุ์ (จรัล, 2544) สกุลตีนนก 16 ชนิด (สุทธิรา, 2543) สกุลมะขามป้อม 34 ชนิด และสกุลโลดทะนง 13 ชนิด (Chantaranothai, in prep.)

1.2 ศึกษาพรรณไม้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ: พืชสกุลกระดุมเงิน 34 ชนิด (อมรรัตน์, 2543; ภาพที่ 1) และสกุลเอื้องเพ็ดม้า 20 ชนิด 1 พันธุ์ (ประภาพร, 2543)

1.3 ศึกษาพรรณไม้ในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน: พืชวงศ์ผักปราบ 6 สกุล 21 ชนิด (วิไลวรรณ, 2542)

วงศ์หญ้า 57 สกุล 89 ชนิด 1 พันธุ์ (มณฑล, 2543) และวงศ์ขิง 9 สกุล 45 ชนิด (สุรพล, 2543)

จุดเด่นของการวิจัย นอกจากจะได้รูปวิธานในการระบุพืชแล้ว ยังได้ข้อมูลที่น่าสนใจ ดังนี้

ก. ค้นพบพืชชนิดใหม่ของโลก (ตารางที่ 1)

ข. ค้นพบพืชชนิดใหม่ของประเทศ (ตารางที่ 2)

ค. พบพืชที่คาดว่าเป็นชนิดใหม่ของโลก ซึ่งจำเป็นต้องรอการตรวจสอบเพิ่มเติม (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1. พืชชนิดใหม่ของโลก จำนวน 3 ชนิด

| ชื่อพืช | ชื่อพฤกษศาสตร์ | ชื่อวงศ์ |
|---|---|---|
| กระชายวิสุทธิ์ | *Boesenbergia baimaii* S. Saensouk and K. Larsen | วงศ์ขิง |
| มณีนิล | *Eriocaulon pseudoescape* A. Prajaksood and Chantar. | วงศ์กระดุมเงิน |
| ใต้ใบไทย | *Phyllanthus chayamaritae* Chantar. | วงศ์เปล้า |

ตารางที่ 2. รายชื่อพืชชนิดใหม่ของประเทศไทย จำนวน 19 ชนิด

| ชื่อพืช | ชื่อพฤกษศาสตร์ | ชื่อวงศ์ |
|---|---|---|
| นางแย้มสร้อยสวรรค์ | *Clerodendrum godefroyi* Kuntze | วงศ์กะเพรา |
| นางแย้มใต้ขนม่วง | *C.* cf. *hispidum* | วงศ์กะเพรา |
| ปิ้งแดงดง | *C. japonicum* (Thunb.) Sweet | วงศ์กะเพรา |
| นมสวรรค์ฮาลา | *C. myrmecophilum* Ridl. | วงศ์กะเพรา |
| นางแย้มดอยดอกเล็ก | *C. subscaposum* Hemsl. | วงศ์กะเพรา |
| กระดุมเทาใบยาว | *Eriocaulon bassacense* Moldenke | วงศ์กระดุมเงิน |
| จุกนกยูงใบยาว | *E. brownianum* Mart. | วงศ์กระดุมเงิน |
| ตุ้มหูถ้ำสอเหนือ | *E. christopheri* Fyson | วงศ์กระดุมเงิน |
| ตุ้มหูเทาก้านยาว | *E. kathmanduense* Satake | วงศ์กระดุมเงิน |
| ตาปูเล็ก | *E. minimum* Lam. | วงศ์กระดุมเงิน |
| กระดุมสามสี | *E. nautiliforme* Lecomte | วงศ์กระดุมเงิน |
| เอื้องนวล | *Pericaria lapathifolia* (L.) S.F. Gray var. *lanigera* (R.Br.) Chantar. and P. Tubtimthong | วงศ์เอื้องเพ็ดม้า |
| เอื้องขน | *Polygonum dichotomum* Blume | วงศ์เอื้องเพ็ดม้า |
| เอื้องไผ่ | *P. serrulatum* Lagasc. | วงศ์เอื้องเพ็ดม้า |
| เอื้องชมพู | *P. viviparum* L. | วงศ์เอื้องเพ็ดม้า |
| มะยมเขมร | *Phyllanthus ankorensis* Beille | วงศ์เปล้า |
| จำปายะลา | *Polyalthia lateritia* J. Sinclair | วงศ์กระดังงา |
| สะบันงาป่า | *P. obliqua* Hook.f. and Thomson | วงศ์กระดังงา |
| ผ่าเสี้ยนพุ่ม | *Vitex cochinchinensis* Dop | วงศ์กะเพรา |

ง. แก้ปัญหาเรื่องชื่อพฤกษศาสตร์ให้ถูกต้องตามหลักอนุกรมวิธานพืช ดังนี้

- ค้นพบชื่อพฤกษศาสตร์ของต้นหมากเล็กหมากน้อยที่ถูกต้อง คือ *Vitex scabra* Wall. and Schauer (วงศ์กะเพรา) ซึ่งเป็นชื่อที่ถูกลืมไปตั้งแต่ปี ค.ศ.1847 (Schauerr, 1847) และนักพฤกษศาสตร์ใช้ชื่อสับสนโดยจัดให้หมากเล็กหมากน้อยมีชื่อว่า *V. quinata* (Lour.) F.N. Williams ซึ่งไม่ถูกต้อง

- พบว่า Craib (1918) นักพฤกษศาสตร์ชาวสก็อต ตั้งชื่อต้นผ่าเสี้ยนว่า *Vitex pierrei* โดยไม่ได้ตรวจสอบว่าพืชชนิดนี้มีชื่อพฤกษศาสตร์อยู่แล้วว่า *V. canescens* Kurz จึงจัดให้ชื่อ *V. pierrei* เป็นชื่อพ้อง

ตารางที่ 3. พืชที่คาดว่าเป็นพืชชนิดใหม่ของโลก จำนวน 23 ชนิด

| ชื่อสกุล | จำนวนชนิด | ชื่อวงศ์ |
|---|---|---|
| *Clerodendrum* | 3 | วงศ์กะเพรา |
| *Chloris* | 1 | วงศ์หญ้า |
| *Eriocaulon* | 12 | วงศ์กระดุมเงิน |
| *Polygonum* | 3 | วงศ์เอื้องเพ็ดม้า |
| *Polyalthia* | 4 | วงศ์กระดังงา |

- พบว่า Dop (1935) นักพฤกษศาสตร์ชาวฝรั่งเศส ได้ยุบให้ผ่าเสี้ยนพุ่ม (*Vitex cochnchinensis* Dop) เป็นชื่อพ้องของ *V. pierrei* ซึ่งความจริงแล้ว ผ่าเสี้ยนพุ่มเป็นพืชอีกชนิดหนึ่ง มีลักษณะวิสัยเป็นไม้พุ่ม และช่อดอกไม่แตกแขนง ส่วนผ่าเสี้ยนนั้น มีลักษณะเป็นไม้ต้น และช่อดอกแตกแขนง จึงได้ยกฐานะ ผ่าเสี้ยนพุ่มเป็นระดับชนิดตามเดิม และเดิมนั้นพบพืชชนิดนี้เฉพาะทางภาคใต้ของเวียดนาม ปัจจุบันพบทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทยด้วย

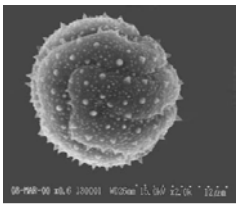
จ. ได้ตั้งตัวอย่างต้นแบบ (type) แก่พืชหลายชนิดเพื่อให้สอดคล้องกับกฎนานาชาติในการตั้งชื่อพฤกษศาสตร์ (International Code of Botanical Nomenclature, ICBN) โดยดำเนินการดังนี้

- ตัวอย่างเลือกเป็นตัวอย่างต้นแบบ (lectotype) ให้กับ ควนใต้ (*Vitex longisepala* King and Gamble) โดยเลือกตัวอย่างหมายเลข *Wray* 1319 จากพิพิธภัณฑ์พืชสวนพฤกษศาสตร์คิว ประเทศอังกฤษ ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บจากรัฐเปรัค มาเลเซีย และเลือกตัวอย่างหมายเลข *Thorel* 1114 จากพิพิธภัณฑ์พืชสวนพฤกษศาสตร์คิว ให้เป็นตัวอย่างเลือกต้นแบบของผ่าเสี้ยนพุ่ม ซึ่งเก็บในปี ค.ศ.1862-1866 จากไซง่อน (โฮจิมินห์ซิตี้) ประเทศเวียดนาม

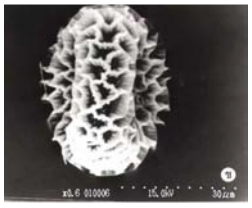
- ตัวอย่างเลือกเป็นตัวอย่างต้นแบบเสริม (epitype) ให้กับ ต้นหมากเล็กหมากน้อย โดยเลือกตัวอย่างหมายเลข *Kerr* 8612 จากพิพิธภัณฑ์พืช สวนพฤกษศาสตร์คิว ซึ่งเก็บวันที่ 4 มีนาคม พ.ศ.2467 จากจังหวัดอุดรธานี เป็นตัวอย่างต้นแบบเสริม ตามกฎ ICBN ข้อ 9.7 เนื่องจากตัวอย่างต้นแบบ (holotype) หมายเลข *Wallich* 1758 จากพิพิธภัณฑ์พืช สวนพฤกษศาสตร์คิว เป็นตัวอย่างที่เก็บในปี ค.ศ.1826 จาก Seagaen (Sokaen) ประเทศพม่านั้น ไม่สมบูรณ์มีแต่กิ่งและใบเท่านั้น

**2. ด้านเรณูวิทยา** ได้ศึกษาเรณูของพืชสกุลยางโอน 11 ชนิด สกุลตีนนก 7 ชนิด และสกุลพนมสวรรค์ 28 ชนิด 1 พันธุ์ สกุลกระดุมเงิน 12 ชนิด และสกุลเอื้องเพ็ดม้า 19 ชนิด 1 พันธุ์ และพืชวงศ์ขิง จำนวน 10 ชนิด พบว่าเรณูของพืชทุกชนิดเป็นเม็ดเดี่ยว (ภาพที่ 2) สำหรับลักษณะเรณูอื่นๆ ของพืชสรุปได้ดังตารางที่ 4 จากการศึกษาพบว่าลักษณะทางเรณูวิทยาของพืชสกุลเอื้องเพ็ดม้ามีประโยชน์อย่างมากในการช่วยจำแนกสกุล เนื่องจากเรณูมีลักษณะช่องเปิด 3 แบบ ได้แก่ 1) แบบ 3-colporate พบใน *P. plebeium* และ *P. viviparum* (ภาพที่ 3ก) 2) แบบ 3-colpate พบใน *P. chinensis* และ var. *hispidum* (ภาพที่ 3ข) และ 3) แบบ pantoporate (ภาพที่ 3ค) จากพืชที่ศึกษา 17 ชนิด และ 1 พันธุ์ จากหลักฐานนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Mondal (1997) และ Munshi and Javeid (1986) ในการจำแนกหมู่ (section) ของพืชในสกุลนี้ ดังนั้นพืชสกุลเอื้องเพ็ดม้าที่ใช้ชื่อสกุลว่า *Polygonum* L. จึงควรเป็นความหมายที่กว้าง (*sensu lato*) และผลจากการศึกษานี้ควรแบ่งพืชที่ศึกษาออกเป็นสกุลอื่นๆ ด้วยกัน ได้แก่ สกุลผักไทรริน (*Polygonum s.s.*) สกุลเอื้องชมพู (*Bistorta*) และสกุลเอื้องเพ็ดม้า (*Persicaria*) ข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาเรณูของชนิดอื่นๆ เพิ่มขึ้น และควรศึกษาลักษณะของพืชเพิ่มเติม เพื่อยืนยันการแบ่งสกุลเอื้องเพ็ดม้าออกเป็นอีกหลายสกุลต่อไป สำหรับลักษณะทางเรณูวิทยาของพืชวงศ์ขิงนั้นสามารถช่วยในการจำแนกระดับเผ่าได้ โดยอาศัยขนาดและลักษณะของลวดลายที่ผิว ในขณะที่เรณูของพืชสกุลไม้ตีนนกสามารถจำแนกพืชออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะของลวดลายที่ผิว อย่างไรก็ตาม ลักษณะทางเรณูวิทยาไม่สามารถช่วยจำแนกชนิดของพืชสกุลพนมสวรรค์ และสกุลกระดุมเงินได้ เนื่องจากทุกชนิดมีลักษณะทางเรณูวิทยาใกล้เคียงกัน

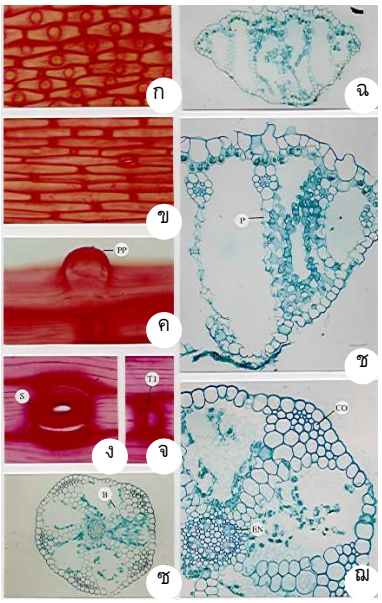
**3. ด้านกายวิภาคศาสตร์** ศึกษากายวิภาคศาสตร์ของใบและก้านช่อดอกของพืชสกุลกระดุมเงิน จำนวน 8 ชนิด กายวิภาคศาสตร์ของแผ่นใบ กาบใบ และลำต้นของพืชวงศ์ผักปราบ 6 สกุล 21 ชนิด กายวิภาคศาสตร์ของใบโดยกรรมวิธีพาราฟินของพืชวงศ์หญ้า 5 วงศ์ 8 ชนิด กายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อชั้นผิวใบโดยกรรมวิธีลอกผิวของสกุลตีนนก 8 ชนิด และกายวิภาคศาสตร์ของราก ลำต้น และใบของพืชสกุลเอื้องเพ็ดม้า 7 ชนิด 1 พันธุ์ พบว่าการศึกษาของพืชสกุลกระดุมเงินนั้น ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 4) เนื่องจากมีหลายลักษณะที่ไม่เคยมีรายงานพบในพืชวงศ์นี้มาก่อน ลักษณะที่สามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่มพืช ได้แก่ รูปร่างของเซลในเนื้อเยื่อชั้นผิวเมื่อมองจากการลอกผิวด้านบน ผนังด้านขนานเส้นสัมผัสด้านนอก ชนิดของไทรโคม การสะสมผลึก จำนวนชั้นของเซลคลอเรงคิมา รูปร่างกลมในมีโซฟิลล์ ชนิดของแถวเซลค้ำจุนในมีโซฟิลล์ การเรียงตัวของแถวเซลค้ำจุนในมีโซฟิลล์ ชนิดของเซลในเยื่อหุ้มมัดท่อลำเลียงของก้านช่อดอก จำนวนแถวเซลค้ำจุนในก้านช่อดอก อย่างไรก็ตาม ลักษณะเหล่านี้ส่วนใหญ่มีความผันแปร จึงไม่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกระดับชนิดได้



ภาพที่ 2. เรณูของ *E. smitinandii*



ภาพที่ 3. เรณูของ *Polygonum* spp. ก) *P. viviparum* ข) *P. chinense* var. *hispidum* ค) *P. lanigerum*




ภาพที่ 4. ลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของใบ (ก-ช) และก้านช่อดอก (ซ-ฌ) ของ *E. echinulatum*

א. เนื้อเยื่อผิวด้านบน จากการลอกผิว สเกล 100 ไมโครเมตร
ב. เนื้อเยื่อผิวด้านล่าง จากการลอกผิว สเกล 100 ไมโครเมตร
ג. ปุ่มเล็ก (PP) ที่ผิวใบด้านบน จากการลอกผิว สเกล 25 ไมโครเมตร
ד. ปากใบ (S) แบบพาราไซติก สเกล 25 ไมโครเมตร
ה. ไทรโคมแบบ 2 เซล (T1) สเกล 25 ไมโครเมตร
ו. ตัดตามขวาง สเกล 200 ไมโครเมตร
ז. มัดท่อลำเลียงมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้นและมีแถวเซลค้ำจุนมีโซฟิลล์เรียงจากมัดท่อลำเลียงถึงเนื้อเยื่อผิวด้านล่าง (P) สเกล 100 ไมโครเมตร
ח. แถวเซลค้ำจุนก้านช่อดอก (B) มี 5 แห่ง สเกล 200 ไมโครเมตร
ฌ เซลคอลเลงคิมา (CO) อยู่ใต้เนื้อเยื่อชั้นผิวเฉพาะบริเวณที่มีแถวเซลค้ำจุน แถวของเนื้อเยื่อคล้ายชั้นในสุด (EN) ซึ่งโค้งออกด้านโฟลเอ็มของมัดท่อลำเลียงขนาดใหญ่ และโค้งเข้าด้านไซเล็มของมัดท่อลำเลียงขนาดเล็ก สเกล 100 ไมโครเมตร

การศึกษาของพืชวงศ์ผักปราบ พบว่าลักษณะที่นำมาใช้ในการจำแนกสกุลได้แก่ ขน ชนิดของปากใบ ลักษณะเซลในเนื้อเยื่อชั้นผิว และในชั้นมีโซฟิลล์

การศึกษาของพืชวงศ์หญ้าทั้ง 8 ชนิด สอดคล้องกับการศึกษาของ Metcalf (1960) และ Koyama (1987) ในการจำแนกพืชออกเป็น 5 วงศ์ย่อย ได้แก่ Aristidoid, Arundinoid, Bambusoid, Chloridoid และ Panicoid ยกเว้นในสกุล *Oryza* เนื่องจากทั้งสองท่านได้อธิบายถึงเซลคลอโรพลาสต์ในชั้นมีโซฟิลล์มีผนังเซลยื่นเข้าไปในไซโตพลาซึม ซึ่งเป็นลักษณะของวงศ์ย่อย Bambusoid แต่การศึกษาครั้งนี้พบลักษณะดังกล่าวใน *Thysanolaena maxima* ซึ่งเป็นตัวแทนของวงศ์ย่อย Arundinoid แต่ไม่พบลักษณะดังกล่าวในสกุล *Oryza* ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่สนับสนุนการจัดกลุ่มใหม่ระหว่างสมาชิกในวงศ์ย่อย Arundinoid และ Bambusoid ได้

เนื้อเยื่อชั้นผิวใบของพืชสกุลตีนนกทั้ง 8 ชนิด มีเซลเอพิเดอร์มิสรูปร่างไม่แน่นอน ขอบเซลหยักหรือเรียบ เซลที่บริเวณเนื้อเยื่อลำเลียงรูปทรงกระบอก มีไทรโคมแบบขนและแบบต่อม ปากใบแบบ anomocytic ลักษณะที่จำแนกพืชได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีปากใบทั้งด้านบนและด้านล่าง และกลุ่มที่มีปากใบเฉพาะด้านล่าง

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ที่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกกลุ่มพืชสกุลเอื้องเพ็ดม้า คือ รูปร่างเซลในเนื้อเยื่อชั้นผิว ชนิดของปากใบ ไทรโคม และชนิดของเนื้อเยื่อที่ปรากฏในเนื้อเยื่อพื้นของราก ลำต้นและใบ

**4. ด้านโครโมโซม** ศึกษาโครโมโซมพืชวงศ์ขิง 9 สกุล จำนวน 42 ชนิด ด้วยวิธี Feugen squash มีจำนวนโครโมโซม 2n=20-92 สามารถนำจำนวนโครโมโซมมาช่วยจำแนกชนิดในสกุลกระชาย (*Boesenbergia*) และสกุลกระเจียว (*Curcuma*) เท่านั้น และการศึกษานี้เป็นการรายงานผลของโครโมโซมเป็นครั้งแรกจำนวน 21 ชนิด

**5. ด้าน numerical taxonomy** ศึกษาประชากรของพืชสกุลพนมสวรรค์ 10 ชนิด โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ปัจจัยและการวิเคราะห์การจัดจำแนก โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 13 ลักษณะ ได้แก่ ความยาวของใบ ความกว้างของใบ จำนวนเส้นแขนงใบ ความยาวของก้านใบ ความยาวของก้านดอก ความยาวของหลอดกลีบ

เลี้ยง ความยาวของแฉกกลีบเลี้ยง ความกว้างของแฉกกลีบเลี้ยง ความยาวของหลอดกลีบดอก ความยาวของแฉกกลีบดอก ความกว้างของแฉกกลีบดอก ความยาวของก้านชูอับเรณู ความยาวของอับเรณู พบว่าประชากรมีความแปรปรวนระหว่างกลุ่มและภายในกลุ่มแตกต่างกันไม่ชัดเจน จึงไม่สามารถจำแนกพืชแต่ละประชากรออกเป็นชนิดได้ แต่สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยประชากรของ *Clerodendrum colebrookianum*, *C. godefroyi*, *C. kaempferi*, *C. lloydianum*, *C. paniculatum*, *C. penduliflorum*, *C. schmidtii* และ *C. villosum* กลุ่มที่ 2 เป็นประชากรของ *C. infortunatum* และกลุ่มที่ 3 เป็นประชากรของ *C. serratum*

ตารางที่ 4. เรณูวิทยาของพืชที่ศึกษา

| กลุ่มพืช | สมมาตร | ขั้ว | ช่องเปิด | รูปร่าง | ขนาด (μm) | ผิว |
|---|---|---|---|---|---|---|
| สกุลยางโอน | รัศมี, ด้านข้าง | apolar | inaperturate | spheroidal | 27-63 | scabrate, verrucate, scabrate and echinate, psilate and echinate, cup-echinate |
| สกุลตีนนก | รัศมี | isopolar | 3-colporate | prolate spheroidal, subprolate, spherical, oblate spherical | 19-53 | tectate แบบ foveolate, micro-rugulate |
| สกุลพนมสวรรค์ | รัศมี | isopolar | 3-colporate | prolate spheroidal, subprolate, spherical, oblate spherical | 32.5-125 | echinate |
| สกุลกระดุมเงิน | ไม่มีสมมาตร | hetero-polar | spiraperture with parallel spirals | spheroidal | 15-30 | echinate |
| สกุลเอื้องเพ็ดม้า | รัศมี | isopolar, apolar | 3-colpate, 3-colporate, pantoporate | spheroidal, prolate, prolate spheroidal, | 12-65 | reticulate, granulate, |
| วงศ์ขิง | รัศมี | apolar | inaperturate | spheroidal | 30-115 | psilate, short or long-spinate, rugulate, microrugulate |

## บทสรุป

จากการศึกษาอนุกรมวิธานของพรรณไม้บางวงศ์ในประเทศไทย ทำให้ได้ข้อมูลที่สำคัญหลายประการ ได้แก่ ข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธานพืช กายวิภาคศาสตร์ เรณูวิทยา โครโมโซม และ numerical taxonomy ซึ่งทำให้เกิดองค์ความรู้ใหม่และพัฒนาองค์ความรู้เดิม เป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการพัฒนาประเทศ สามารถนำไปเผยแพร่ในระดับนานาชาติ สำหรับการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาทบทวนพรรณไม้ของประเทศ ได้รูปวิธานในสกุลยางโอน สกุลพนมสวรรค์ สกุลตีนนก สกุลมะขามป้อม และสกุลโลดทะนง ซึ่งควรมีการตรวจสอบตัวอย่างพรรณไม้ต้นแบบก่อนที่จะนำไปเผยแพร่ ส่วนการศึกษาพืชสกุลกระดุมเงิน สกุลเอื้องเพ็ดม้า พืชวงศ์ผักปราบ และพืชวงศ์หญ้า ควรจะศึกษาทบทวนพรรณไม้ในระดับประเทศต่อไป ส่วนการศึกษาเรณูของพืชสกุลเอื้องเพ็ดม้าควรจะศึกษาทั้งวงศ์เพื่อที่จะได้ข้อสรุปการใช้ชื่อสกุล และยังเป็นการศึกษาวิวัฒนาการเรณูของพืชวงศ์นี้

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ 139005, 540037, 540038, 540039, 540068, 540069, 541075, 541090 และขอขอบคุณผู้อำนวยการและเจ้าหน้าที่ของพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร, หอพรรณไม้ กรมป่าไม้, พิพิธภัณฑ์พืช สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่, พิพิธภัณฑ์พืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และพิพิธภัณฑ์พืชกสิน สุวตะพันธุ์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุญาตให้ศึกษาตัวอย่างพรรณไม้และใช้บริการจากห้องสมุด

## เอกสารอ้างอิง


จรัล ลีรติวงศ์. 2544. พืชสกุลพนมสวรรค์ (*Clerodendrum* L.) วงศ์กะเพรา (Lamiaceae) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จำลอง เพ็งคล้าย. 2532. พืชใบเลี้ยงคู่ในประเทศ. ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. การสัมมนาชีววิทยา ครั้งที่ 7, เชียงใหม่. หน้า 117-122.

เต็ม สมิตินันทน์. 2523. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. ฟันนี่พลับลิชชิ่ง กรุงเทพฯ.

ธวัชชัย สันติสุข. 2532. พรรณพฤกษชาติของประเทศไทย. ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. การสัมมนาชีววิทยา ครั้งที่ 7, เชียงใหม่. หน้า 81-90.

ประภาพร ทับทิมทอง. 2543. การศึกษาเบื้องต้นของพืชสกุลผักไผ่น้ำ (*Polygonum* L.) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พงศธร ยุกตะทัต. 2533. การศึกษาทางอนุกรมวิธานของพรรณไม้วงศ์ขิงในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพฤกษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาสกร บุญชาลี. 2544. พืชสกุลยางโอน (*Polyalthia* Blume) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

มณฑล นอแสงศรี. 2543. พืชวงศ์หญ้าในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน จังหวัดสกลนคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิไลวรรณ มนูศิลป์. 2542. พรรณไม้วงศ์ผักปราบในอุทยานแห่งชาติภูพาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สอาด บุญเกิด, จเร สดากร และ ทิพย์พรรณ สดากร. 2525. ชื่อพรรณไม้ในเมืองไทย. ม.ป.ท.

สุทธิรา ขุมกระโทก. 2543. พืชสกุลไม้ตีนนก *(Vitex* L.) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรพล แสนสุข. 2543. การศึกษาสัญฐานวิทยา โครโมโซม และละอองเรณูของพรรณไม้วงศ์ขิง ในอุทยานแห่งชาติภูพาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อมรรัตน์ ประจักษ์สูตร์. 2543. การศึกษาเบื้องต้นของพืชวงศ์กระดูมเงินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Airy Shaw, H.K. 1971. The Euphorbiaceae of Siam. *Kew Bulletin* 26(2): 191-363.

Bor, N.L. 1962. Studies in Flora of Thailand (Gramineae). *Dansk. Botanisk. Arkiv*. 20(2): 137-178.

Cantino, P.D., Harley, R.M. and Wagstaff, S.J. 1992. *In* Harley, R.M. and T. Reynolds. (eds.), Advances in Labiatae Science. Royal Botanic Gardens, Kew.

Chantaranothai, P. in prep. The genus *Phyllanthus* (Euphorbiaceae) from Thailand.

Chantaranothai, P. in prep. The genus *Trigonostemon* (Euphorbiaceae) from Thailand.

Craib, W.G. 1912. Contributions to the Flora of Siam Dicotyledons. University of Aberdeen, Scotland.

Craib, W.G. 1918. XXXV. Contributions to the Flora of Siam. *Bulletin of Miscellaneous Information* (Kew) 1918: 362-371.

Craib, W.G. 1931. Florae Siamensis Enumeratio I. The Auspices of the Siam Society, Bangkok.

Darlington, C.D. and L.P. La Cour. 1966. The Handling of Chromosome. George Allen and Unvin, London.

Dop, P. 1935. Vérbenacées. *In* M.H. Lecomte (ed.), Florae Générale de L'Indo-Chine. 4(7): 774-913.

Hansen, B. 1969. Studies in the flora of Thailand 52: a new species of *Eriocaulon*. *Dansk. Botanisk. Arkiv*. 27(1): 30-33.

Fletcher, H.R. 1938. The Siamense Verbenaceae. *Bulletin of Miscellaneous Information* (Royal Botanic Gardens, Kew) 10: 401-444.

Koyama, T. 1955. Koyama: Xyridales of Dr. Hayata's Collection. The Philippine *Journal of Science* 84(3): 372-373.

Koyama, T. 1987. Grasses of Japan and its neighboring regions: an identification mannual. Kadansha, Japan.

Larsen, K. 1961. Studies in the flora of Thailand. *Dansk Botanisk Arkiv*. 20(2): 51-54.

Metcalf, C.R. 1960. Anatomy of Monocotyledon Part 1 Gramineae. The Clarendon, Oxford. Moldenke, H.N. 1949. The Known Geographical Distribution of the Member of Verbenaceae, Avicenniaceae, Stilbaceae, Dicrastylidaceae, Symphoremaceae, Nyctanthaceae and Eriocaulaceae. Herbarium New York Botanical Gardens, New York.

Moldenke, H.N. 1954. Notes on New and Noteworthy Plants: XVIII. *Phytologia* 5(3): 83-92.

Moldenke, H.N. 1971. A Fifth Summary of the Verbenaceae, Avicenniaceae, Stilbaceae, Dicrastylidaceae, Symphoremaceae, Nyctanthaceae and Eriocaulaceae of the World as to Valid Taxa, Geographic Distribution and Synonymy. Vol.1, Bram-Brumfield, Michigan.

Mondal, M.S. 1997. Pollen Morphology and Systematic Relationship of the Family Polygonaceae. Botanical Survey of India, Calcutta.

Munshi, A.H. and G.N. Javeid. 1986. Systematic Studies in Polygonaceae of Kashmir Himalaya. Scientific Publishers, Jodhpur, India.

Satake, Y. 1974. *Eriocaulon* of Thailand. *Acta Phytotaxonomy Geobotany* 26(1-2): 41-51.Schauerr, J.C. 1847. Verbenaceae. *In* A. de Candolle (ed.), Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis. 11: 522-700.

Schmidt, J. 1904. Flora of Koh Chang. *Journal de Botabique: Botanisk Tidsskrift* 26(1): 167.

Smitinand, T. 1961. Some Noteworthy Plants from Thailand (Siam). *The Natural History Bulletin of the Siam Society* 20: 42-69.

Suvatti, C. 1978. Flora of Thailand I. Royal Institute Thailand, Bangkok.

# พรรณพืชวงศ์ขิงของไทย

**พวงเพ็ญ ศิริรักษ์**

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ สงขลา 90112

**Abstract: Zingiberaceae of Thailand**

Zingiberaceae is an important natural plant resource that provides many useful products for food, spices, medicines, dyes, perfume and decorative items. It is one of the largest families in the plant kingdom, comprises approximately 50 genera and 1000 species and has its center of distribution in Southeast Asia. More than 21 genera and 200 species are now recorded from Thailand. The taxonomic knowledge of Thai Zingiberaceae is scarcely known. However, in recent years more studies on this family have been achieved and several new taxa have been described. The genera which have been revised include *Boesengia* (17), *Caulokaempferia* (5), *Geostachys* (3) and *Kaempferia* (16). Three large genera, *Curcuma* (~50), *Hedychium* (~20) and *Zingiber* (~40), are under revision. In this paper, the species diversity of each tribe including descriptions and distributions are discussed. Photos of some species are also presented.

**Key words:** Zingiberaceae, Thailand, diversity

## บทนำ

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นแหล่งสำคัญของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์อย่างมาก ทั้งส่วนที่นำมาใช้เป็นอาหาร เครื่องเทศ ยารักษาโรค สีย้อม เครื่องสำอาง และเป็นไม้ประดับเพื่อความสวยงาม มีหลายชนิดที่รู้จักกันดี และนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายทั่วโลก เช่น ขิง (*Zingiber officinale* Roxb.) คนเอเชียรู้จักนำขิงมาใช้ประโยชน์เป็นเวลาหลายร้อยปีมาแล้ว ขิงเป็นเครื่องเทศชนิดแรกจากตะวันออกที่ชาวยุโรปรู้จัก นอกจากจะใช้ปรุงรสอาหารและเครื่องดื่มแล้ว ขิงยังสามารถใช้รักษาโรคได้หลายชนิด เช่น โรคหวัด ไอ ปวดท้อง ไขข้ออักเสบ และไมเกรน เป็นต้น ขมิ้น (*Curcuma longa* L.) เป็นเครื่องเทศที่สำคัญของชาวอินเดียและประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญของเครื่องแกง สีย้อม เครื่องสำอาง และรักษาโรคหลายชนิด เช่น แก้ปวดท้อง ท้องร่วง ขับลม ห้ามเลือด และเกี่ยวกับโรครูห์มาติค เป็นต้น ในปัจจุบันประเทศไทยได้พัฒนาขยายพันธุ์พืชหลายชนิดในสกุล *Curcuma* ซึ่งมีช่อดอกที่สวยงามและคงทน เป็นไม้ประดับออกสู่ตลาดและเป็นสินค้าส่งออกต่างประเทศด้วย เช่น ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) หิ่งห้อย (*C. parviflora* Wall.) เทพรำลึก (*C. thorelii* Gagnep.) และบัวโกเมน (*C. rhabdota* Sirirugsa and Newman) เป็นต้น นับว่าพืชวงศ์ขิงเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญยิ่งทีเดียว

บทความเกี่ยวกับ “พรรณพืชวงศ์ขิงของไทย” นี้ ได้เรียบเรียงขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ข้อมูลในภาพรวมของพรรณพืชวงศ์ขิงที่พบในประเทศไทย ความก้าวหน้าเกี่ยวกับการศึกษาพืชวงศ์นี้ จำนวนสกุลและชนิดที่มีการศึกษาแล้ว ให้คำบรรยายโดยย่อ การกระจายพันธุ์ พร้อมด้วยภาพประกอบของพืชตัวอย่างบางชนิด ส่วนรายละเอียดผู้สนใจสามารถค้นคว้าเพิ่มเติมได้จากเอกสารอ้างอิงที่ปรากฏอยู่ในบทความนี้

## ลักษณะทั่วไปของพืชวงศ์ขิง

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) จัดเป็นกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีวิวัฒนาการสูงวงศ์หนึ่ง ลักษณะทั่วไปคือ เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุได้หลายฤดู (perennial herb) มีลำต้นใต้ดินแบบไรโซม ที่สามารถใช้ขยายพันธุ์ได้ง่าย ลำต้นเหนือดินเป็นลำต้นเทียม (pseudostem) ที่เกิดจากกาบใบโอบซ้อนกัน ออกดอกเป็นช่อ โครงสร้างของดอกประกอบด้วย กลีบเลี้ยง (sepal) ขนาดเล็กไม่สะดุดตา หลอมเป็นหลอด ตรงปลายแยกเป็น 2 หรือ 3 แฉก กลีบดอก (petal) หลอมเป็นหลอดเช่นเดียวกัน ตรงปลายแยกเป็น 3 แฉก มักเป็นกลีบเรียวยาว เกสรตัวผู้ (stamen) ที่ทำหน้าที่มีเพียง 1 อัน เกสรตัวผู้ที่เป็นหมันเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปคล้ายกลีบดอก เรียกว่า lateral staminodes จำนวน 2 กลีบ (หรืออาจลดรูปหายไป) และเปลี่ยนไปเป็นกลีบปาก (labellum หรือ lip) มีลักษณะคล้ายกลีบดอกเช่นเดียวกันอีก 1 กลีบ และเป็นส่วนที่มีขนาด

ใหญ่ที่สุดของดอก การเปลี่ยนแปลงด้านวิวัฒนาการของเกสรตัวผู้ที่เป็นหมันนี้ ได้มีหลายทฤษฎีอธิบายไว้ใน Holttum (1950) รังไข่ (ovary) มี 3 คาร์เพล อาจมี 3 ช่อง หรือช่องเดียว มีต่อมน้ำหวาน (stylodes) เกิดอยู่เหนือรังไข่ ผลแตกได้แบบ capsule หรือไม่แตกแบบ berry มีเซลที่มีน้ำมันหอมระเหยกระจายอยู่ทั่วไปในทุกส่วนของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในไรโซมจะมีมากกว่าส่วนอื่น จึงทำให้พืชวงศ์ขิงมีกลิ่นเฉพาะอันเป็นลักษณะเด่นที่สามารถชี้ว่าเป็นพืชในวงศ์นี้ได้ทันที พืชวงศ์นี้ชอบขึ้นอยู่ในภูมิอากาศร้อนชื้น ศูนย์กลางของแหล่งกระจายพันธุ์อยู่ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ คาดว่ามีอยู่ในโลกประมาณ 1,000 ชนิด ใน 50 สกุล (Dahlgren et al., 1985)

## การจัดลำดับหมวดหมู่ของพืชวงศ์ขิง

พืชวงศ์ขิงสามารถจำแนกได้เป็น 4 tribe ลักษณะเด่นของแต่ละ tribe มีดังนี้ (Smith, 1981)

**Alpinieae :** 1) การเรียงตัวของใบอยู่ในแนวตั้งฉากกับไรโซม
2) Lateral staminodes ลดรูปลงมามีขนาดเล็กมากหรืออาจหายไป
3) รังไข่มี 3 ช่อง พลาเซนตารอบแกนร่วม (axile placenta)

**Globbeae :** 1) การเรียงตัวของใบยังไม่ชัดเจนว่าขนาน หรือตั้งฉากกับไรโซม
2) Lateral staminodes เป็นแผ่นคล้ายกลีบดอก (petaloid) แยกเป็นอิสระจากกลีบปาก (lip)
3) ก้านเกสรตัวผู้ (filament) ยืดยาวและโค้งคล้ายคันธนู
4) รังไข่มีช่องเดียว พลาเซนตาตามแนวตะเข็บ (parietal placenta)

**Hedychieae :** 1) การเรียงตัวของใบอยู่ในแนวขนานกับไรโซม
2) Lateral staminodes เป็นแผ่นคล้ายกลีบดอก แยกเป็นอิสระจากกลีบปาก
3) รังไข่มี 3 ช่อง พลาเซนตารอบแกนร่วม หรือรังไข่มีช่องเดียว พลาเซนตา รอบแกน (free–central placenta) หรือพลาเซนตารอบแกนด้วน (basal placenta)

**Zingibereae :** 1) การเรียงของใบอยู่ในแนวขนานกับไรโซม
2) Lateral staminodes เป็นแผ่นคล้ายกลีบดอก และเชื่อมติดกับกลีบปาก
3) รังไข่มี 3 ช่อง พลาเซนตารอบแกนร่วม
4) ก้านเกสรตัวเมีย (style) ยืดยาวเหนืออับเรณูมาก และจะถูกหุ้มอยู่ด้วย anther–crest

## ความหลากหลายของชนิดของพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย

ข้อมูลความรู้ด้านความหลากหลาย และอนุกรมวิธานของพืชวงศ์ขิงในประเทศไทยนั้น อาจกล่าวได้ว่ายังรู้กันน้อยมาก ที่ผ่านมา Larsen (1980) ได้ตีพิมพ์ผลงานเกี่ยวกับการจำแนกสกุล พร้อมด้วยคำบรรยายลักษณะของสกุลของพืชวงศ์ขิงของไทย ในวารสาร “Natural History Bulletin of the Siam Society” ซึ่งได้ตีพิมพ์พืชชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทยมาแล้วหลายชนิด และในปี ค.ศ.1996 ได้เสนอรายงานเบื้องต้นเกี่ยวกับรายชื่อพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย ซึ่งคาดว่ามีประมาณ 200 ชนิด ใน 21 สกุล นับว่าเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ต่อการศึกษาพืชวงศ์ขิงของไทยในปัจจุบันเป็นอย่างมาก การศึกษาด้านอนุกรมวิธานของพืชวงศ์ขิงยังไม่เสร็จสมบูรณ์ทั้งวงศ์ จึงยังไม่สามารถตีพิมพ์ในวารสารพรรณไม้ประจำถิ่นของไทย หรือ “Flora of Thailand” ได้ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาอย่างต่อเนื่องโดยนักพฤกษศาสตร์ทั้งไทยและต่างประเทศ ทำให้ได้รับข้อมูลพรรณพืชวงศ์ขิงเพิ่มขึ้น มีความก้าวหน้าที่สรุปได้ดังนี้

**1. Tribe ALPINIEAE** พบในประเทศไทยแล้วประมาณ 8 สกุล

1.1 ***Alpinia*** (สกุลข่า) เป็นสกุลที่มีจำนวนชนิดมากสกุลหนึ่งของวงศ์ขิง ส่วนใหญ่จะพบมากแถบ มาเลเซีย อินโดนีเซีย และบอร์เนียว สกุลนี้มีประมาณ 250 ชนิด คาดว่าในประเทศไทยมีประมาณ 20 ชนิด ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

1.1.1 ***Alpinia conchigera*** Griff. (ข่าลิง) ชอบขึ้นอยู่ในที่โล่ง กระจายพันธุ์อยู่ในมาเลเซีย และอินเดีย ในประเทศไทยพบได้บริเวณพื้นล่าง หรือขอบป่าดิบชื้น เป็นพืชสกุลข่าที่ดอกมีขนาดเล็ก ผลกลม เมื่อสุกมีสีแดงสด ขนาดเล็ก มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7 มิลลิเมตร ไรโซมใช้แก้โรคไขข้ออักเสบ

1.1.2 ***A. galanga*** (L.) Willd. (ข่า) ปลูกกันแพร่หลายทั่วประเทศมาเป็นเวลานานแล้ว รวมทั้งประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ไม่ทราบถิ่นกำเนิดที่แน่นอน ลำต้นเหนือดินสูงประมาณ 1-2 เมตร ช่อดอกออกตรงยอด และตั้งตรง ดอกมีสีขาว ไรโซมใช้เป็นเครื่องเทศปรุงแต่รสอาหาร และเป็นยาสมุนไพร

1.1.3 ***A. javanica*** Blume เป็นพืชพื้นเมืองของมาเลเซีย กระจายพันธุ์ไปยังเกาะชวา และสุมาตรา ในประเทศไทยพบบริเวณป่าชื้นของภาคใต้ ลำต้นสูง 2-3 เมตร ช่อดอกออกตรงยอด มีขนาดใหญ่ กลีบปากมีขนาดใหญ่ ขอบสีขาว บริเวณกลางแผ่นมีสีส้ม และประด้วยจุดและขีดสีแดง

1.1.4 ***A. mutica*** Roxb. (ปุด) กระจายพันธุ์อยู่ในคาบสมุทรมลายู ชอบขึ้นในที่ลุ่ม ในประเทศไทยพบทั่วไปโดยเฉพาะในภาคใต้ บริเวณที่โล่ง ขอบป่า ต้นขึ้นเป็นกอ สูงประมาณ 1-2 เมตร ใบแคบเรียว กลิ่นฉุนรุนแรง ดอกขนาดใหญ่ กลีบดอกสีขาว กลีบปากแดง และด่างสีเหลือง ผลสุกสีส้ม

1.1.5 ***A. zerumbet*** (Pers.) Burtt and R.M. Smith เป็นพืชพื้นเมืองของอินเดียตะวันออกเฉียงเหนือ พม่า และอินโดจีน ในประเทศไทยพบที่อุทยานแห่งชาติเขาสก จ.สุราษฎร์ธานี ต้นสูงประมาณ 2 เมตร ช่อดอกออกตรงยอดโค้งงอ ดอกค่อนข้างใหญ่ กลีบดอกสีขาว กลีบปากสีแดงขอบเหลือง

1.1.6 ***A.*** aff. ***rafflesiana*** Wall. พบที่ อ.เบตง จ.ยะลา มีลักษณะคล้ายคลึงกับ *A. rafflesiana* ที่ Wallich ได้บรรยายไว้ แต่ยังมีลักษณะที่แตกต่างกันคือ พืชชนิดนี้มีกลีบดอกสีขาว แทนที่จะเป็นสีส้มอย่างชนิดข้างต้น นอกจากนั้นโครงสร้างของกลีบปากมีลักษณะต่างกันคือ ไม่มี “auricle” ตรงบริเวณฐาน ดังนั้น จึงต้องศึกษาต่อไปว่าพืชนี้จะเป็นชนิดใหม่หรือไม่

**1.2** ***Amomum*** L. (สกุลกระวาน) เป็นสกุลที่มีจำนวนชนิดมากอีกสกุลหนึ่งของวงศ์ขิง อาจมีมากกว่า 150 ชนิด ในประเทศไทยพืชสกุลนี้ยังไม่ได้มีการศึกษาทบทวน คาดว่าพบได้ประมาณ 15-20 ชนิด เมื่อเร็วๆ นี้ ชวลิต และคณะ (2543) รายงานว่าพบพืชสกุลนี้ในป่าฮาลา-บาลา จำนวน 7 ชนิด ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

1.2.1 ***Amomum aculeatum*** Roxb. กระจายพันธุ์อยู่ในมาเลเซีย เกาะสุมาตรา และอินเดีย ในประเทศไทยพบในภาคใต้ ต้นเหนือดินแตกเป็นกอ ช่อดอกเจริญจากไรโซมใกล้ฐานของลำต้น ก้านช่อสั้น ดอกจึงอัดรวมกันแน่นมีลักษณะค่อนข้างกลม ลักษณะเด่นคือ ดอกส่วนที่เป็นกลีบปากมีสีเหลืองอมส้มสด มีจุดและเส้นประสีแดง และโค้งเป็นถุงลึก ผลสุกรับประทานได้

1.2.2 ***A. biflorum*** Jack พบครั้งแรกที่ปีนัง มาเลเซีย กระจายพันธุ์ทั่วไปทางภาคเหนือของมาเลเซีย และภาคใต้ของประเทศไทย สามารถจำแนกพืชชนิดนี้ด้วยลักษณะต่อไปนี้คือ ไรโซมค่อนข้างผอมบาง ด้านล่างของใบมีขนอ่อนนุ่ม ส่วนปลายใบยาวคล้ายหาง ช่อดอกประกอบด้วยดอกเพียง 2-3 ดอก ส่วนกลีบปากมีสีขาว มีแถบสีเหลืองผ่านกลางตามยาวของกลีบและขนาบด้วยเส้นสีแดง

1.2.3 ***A. hastilabium*** Ridl. เป็นพืชท้องถิ่นของมาเลเซีย ในประเทศไทยพบในภาคใต้ ตั้งแต่ จ.ตรัง ถึงชายแดนไทย-มาเลเซีย ลำต้นเหนือดินสูง 2.0-2.5 เมตร ช่อดอกออกใกล้โคนต้น แกนดอกสั้น ริ้วประดับหุ้มดอกมีสีน้ำตาล ดอกมีสีขาว สำหรับกลีบปากยังมีแถบสีเหลืองบริเวณกลางแผ่น ขอบของกลีบปากมีลักษณะอ่อนพลิ้วเป็นคลื่น

**1.3** ***Elettariopsis*** Bak. (สกุลปุดสิงห์) สกุลนี้อาจยังไม่รู้จักกันแพร่หลายนักในประเทศไทย บางชนิดใบมีกลิ่นคล้ายแมงดา คนท้องถิ่นนิยมนำใบชนิดนี้มาจิ้มน้ำพริก หรือตำใส่น้ำพริกแทนแมงดา พบได้ทั่วไปในป่าดิบชื้นของคาบสมุทรมาเลเซีย และภาคใต้ของประเทศไทย ทั้งสกุลมีประมาณ 10 ชนิด ในประเทศไทยอาจพบได้ 4-5 ชนิด ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

1.3.1 ***Elettariopsis curtisii*** Bak. เป็นพืชพื้นเมืองของมาเลเซีย พบครั้งแรกที่ปีนัง ในประเทศไทยพบบริเวณพื้นล่างของป่าดิบชื้นของภาคใต้ ไรโซมผอมบาง ลำต้นเหนือดินประกอบด้วยใบ 1-5 ใบ สูงประมาณ 20-30 เซนติเมตร ช่อดอกออกจากไรโซมใกล้ฐานของลำต้น มีสีเหลือง ใบมีกลิ่นฉุนคล้ายแมงดา อย่างไรก็ตาม พบว่าพืชชนิดนี้ที่ขึ้นในบางพื้นที่อาจไม่มีกลิ่นฉุนดังกล่าวก็ได้

1.3.2 ***E. smithiae*** Kam กระจายพันธุ์ในมาเลเซีย และภาคใต้ของประเทศไทย มีลักษณะคล้ายกับ *E. curtisii*

แต่ใบมีสีเขียวเข้ม และคล้ำกว่ามาก ที่สังเกตได้ชัดเจน กาบใบโอบซ้อนกันแน่น ต้นเหนือดินประกอบด้วยใบ 3-8 ใบ ช่อดอกออกใกล้ฐานลำต้น ดอกมีสีเหลือง กลีบปากจะแคบกว่าชนิดแรก

**1.4. *Etlingera*** (Giseke) R.M.Smith (สกุลกาหลา) พืชสกุลนี้มีลำต้นเหนือดินและใบขนาดใหญ่กว่าสกุลอื่นๆ ในวงศ์ขิง อาจมีต้นสูง 5-6 เมตร Burtt and Smith (1986) ได้นำสกุล *Achasma, Geanthus* และ *Nicolaia* มารวมกันเป็นสกุล *Etlingera* ทั้งสกุลมีประมาณ 60 ชนิด ในประเทศไทย ชวลิต และคณะ (2543) รายงานว่า สำรวจพบ 16 ชนิด ในป่าฮาลา-บาลา และ Maknoi (2001) ได้สำรวจพืชวงศ์ขิงบริเวณชายแดนไทย-มาเลเซีย ใน จ.ยะลา และนราธิวาส รายงานว่าพบ 10 ชนิด ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

1.4.1 ***Etlingera corneri*** J. Mood and H. Ibrahim มีถิ่นกำเนิดในมาเลเซีย และภาคใต้ของประเทศไทย J. Mood and H. Ibrahim (2000) ได้บรรยายและเสนอเป็นพืชชนิดใหม่ของโลกเมื่อเร็วๆ นี้ โดยตัวอย่างพืชต้นแบบเก็บจาก จ.นราธิวาส ก้านช่อดอกยาว อวบ แข็งแรง ดอกย่อยมีริ้วประดับสีแดงสดรองรับ ซึ่งเรียงซ้อนกันแน่นบนแกนดอกที่สั้นมองคล้ายดอกกุหลาบ เป็นไม้ประดับที่สวยงาม

1.4.2 ***E. hemisphaerica*** (Bl.) R.M. Smith (กาหลาหอม) ชื่อพ้อง: *Nicolaia fulgens* (Ridl.) K. Larsen กระจายพันธุ์อยู่ในอินโดนีเซีย มาเลเซีย และภาคใต้ของประเทศไทย ลำต้นเหนือดิน สูงได้ถึง 5 เมตร ช่อดอกออกด้านข้างของลำต้น มีก้านช่อยาวถึง 1 เมตร แกนช่อดอกสั้น ดอกที่เรียงซ้อนกันจึงมีลักษณะค่อนข้างกลม ริ้วประดับ และกลีบปากมีสีแดง

1.4.3 ***E. littoralis*** (Koenig) Giseke (ปุดคางคก) ชื่อพ้อง: *Achasma megalocheilos* Griff. กระจายพันธุ์อยู่ในบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย มาเลเซีย และอินโดนีเซีย ขึ้นทั่วไปบริเวณพื้นล่างของป่าดิบชื้น ลำต้นเหนือดินสูงได้ถึง 3 เมตร ใบขนาดใหญ่ยาวถึง 80 เซ็นติเมตร และกว้างถึง 15 เซ็นติเมตร ช่อดอกมีก้านช่อสั้น ฝังอยู่ใต้ดิน รวมทั้งส่วนล่างของช่อ ดังนั้น จึงมักเห็นดอกบานติดอยู่บนผิวดิน กลีบปากมีสีแดงล้วน หรือสีแดงขอบเหลือง ใบใช้เป็นยาสมุนไพร โดยนำมาตำแล้วถูตัว ช่วยลดไข้

1.4.4 ***E. maingayi*** (Bak.) R.M. Smith (กะลาขี้แมว) ชื่อพ้อง: *Nicolaia maingayi* (Bak.) K. Larsen กระจายพันธุ์อยู่ในมาเลเซีย อินโดนีเซีย อินเดีย และภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย พืชต้นแบบเก็บจากเมืองมะละกาของมาเลเซีย สำต้นเหนือดินสูงประมาณ 2 เมตร ช่อดอกออกจากไรโซม ชิดกับลำต้นเหนือดิน ก้านช่อดอกยาวประมาณ 30 เซ็นติเมตร ช่อดอกมีดอกอัดกันแน่น ค่อนข้างกลม กลีบปากมีสีม่วงแดงสด ผลสีแดง ผิวเกลี้ยง

1.4.5 ***E. metriocheilos*** (Griff.) R.M. Smith ชื่อพ้อง: *Achasma phaerocephalum* (Bak.) Holtt. กระจายพันธุ์ในมาเลเซีย อินเดีย และภาคใต้ของประเทศไทย ลำต้นเหนือดินสูงประมาณ 5 เมตร ช่อดอกยาวประมาณ 15 เซ็นติเมตร ฝังอยู่ใต้ดิน โผล่เหนือดินเฉพาะส่วนปลายช่อ มีลักษณะเด่นคือ ริ้วประดับมีสีแดงเข้ม มีขน ยอดเกสรตัวเมียมีสีแดงเข้มเกือบดำ

1.4.6 ***E. punicea*** (Roxb.) R.M. Smith ชื่อพ้อง: *Achasma puniceum* (Roxb.) Loes. กระจายพันธุ์อยู่ในเกาะสุมาตรา อินเดีย ในประเทศไทยพบที่ป่าฮาลา-บาลา จ.นราธิวาส ลำต้นเหนือดินสูงถึง 3 เมตร ช่อดอกออกด้านข้างใกล้ลำต้น ก้านช่อเลื้อยทอดไปบนพื้นดิน ยาวประมาณ 5 เซ็นติเมตร มีขนคลุมหนาแน่น กลีบปากมีลักษณะคล้ายช้อน ส่วนก้านมีสีแดงขอบเหลือง ส่วนปลายที่เป็นแผ่นมีสีแดง และมีเส้นกลางสีเหลือง

1.4.7 ***E. venusta*** (Ridl.) R.M. Smith ชื่อพ้อง: *Nicolaia venusta* (Ridl.) K. Larsen กระจายพันธุ์อยู่บนคาบสมุทรมาลายู และในประเทศไทยพบที่ป่าฮาลา-บาลา จ.นราธิวาส ลำต้นเหนือดินสูง 3-5 เมตร ช่อดอกมีก้านดอกยาว 60 เซ็นติเมตร หรือกว่านั้น ริ้วประดับสีชมพู เรียงซ้อนกันแน่น ทำให้ช่อดอกมีลักษณะกลม ริ้วประดับค่อนข้างอวบไม่เหี่ยวง่าย มีดอกสวยงาม เหมาะเป็นไม้ประดับ ตัดดอกได้ดีมาก

**1.5 *Geostachys*** (Bak.) Ridl. (สกุลปุดเขย่ง) พืชสกุลนี้มีประมาณ 19 ชนิด กระจายอยู่ในมาเลเซีย ไทย และอินโดนีเซีย พบมากในมาเลเซีย ซึ่ง Holttum (1950) ได้บันทึกไว้ 12 ชนิด ในประเทศไทยมีอยู่ 5 ชนิด ได้ศึกษาทบทวนโดย Larsen (1986) ลักษณะเด่นของพืชสกุลนี้คือ ไรโซมเกิดอยู่เหนือพื้นดิน และมีรากค้ำจุน (stilt roots) ช่วยยึดไรโซมกับพื้นดิน และเป็นพืชที่ชอบขึ้นในที่ภูเขาสูง ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

1.5.1 ***Geostachys angustifolia*** K. Larsen พบที่ จ.พังงา (เขาพ่อตาหลวงแก้ว) และที่ จ.นครศรีธรรมราช (อุทยานแห่งชาติเขาหลวง) Larsen (1986) ได้เสนอตั้งเป็นพืชชนิดใหม่ โดยใช้ตัวอย่างพืชต้นแบบจาก จ.พังงา ต้นสูงประมาณ 60 เซ็นติเมตร ไรโซมมีรากค้ำจุน ช่อดอกออกด้านข้าง ชิดกับลำต้น และดอกมักโค้งงอลง ดอกมีสีเหลืองอ่อน แผ่นกลีบปากมีจุดประสีแดง

**1.6 *Hornstedtia* Retz**. พืชสกุลนี้มีลำต้นเหนือดินและใบขนาดใหญ่คล้ายสกุลกาหลา แต่ส่วนของดอกจะแตกต่างกัน โดยเฉพาะกลีบปากของสกุลนี้จะแคบ ยาว และมักจะอวบ พบมากในบริเวณป่าดิบชื้นของมาเลเซีย และกระจายบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย พืชในสกุลนี้มีประมาณ 35 ชนิด ในประเทศไทยอาจพบได้ประมาณ 4-5 ชนิด ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

1.6.1 ***Hornstedtia conica*** Ridl. เป็นพืชพื้นเมืองของมาเลเซีย ในประเทศไทยพบที่บริเวณชายแดนไทย-มาเลเซีย จ.นราธิวาส ลำต้นเหนือดิน สูงประมาณ 3 เมตร ไรโซมอวบ ช่อดอกออกด้านข้างบริเวณฐานของลำต้น รูปร่างคล้ายกระสวย ริ้วประดับค่อนข้างแข็ง โอบซ้อนกันแน่น ดอกมีกลีบปากเด่น รูปร่างผอมและยาว สีชมพูอมม่วง

1.6.2 ***H. leonurus*** (Ridl.) Ridl. กระจายพันธุ์ในมาเลเซีย และภาคใต้ของประเทศไทย บริเวณ จ.นราธิวาส ลำต้นเหนือดิน สูงถึง 4 เมตร ช่อดอกฝังอยู่ใต้ดินเกือบถึงส่วนยอด ดอกมีสีแดงเข้ม

1.6.3 ***H. ophiucus*** (Koenig) Retz. ไรโซมแข็งคล้ายไม้ มักทอดเลื้อยอยู่ใกล้ผิวดิน ลำต้นสูงประมาณ 3 เมตร ช่อดอกมีรูปร่างคล้ายกระสวย ริ้วประดับรูปไข่กว้าง เรียวซ้อนกันแน่น ดอกมีกลีบปากสีแดงขอบขาว

**1.7 *Pommereschea*** Wittmarck เป็นพืชพื้นเมืองของพม่า ในประเทศไทยมีเพียงชนิดเดียวคือ *Pommereschea lackneri* Wittmarck พบที่บริเวณเขาหินปูน ดอยเชียงดาว โดย Larsen (1973)

**1.8 *Siamanthus*** K. Larsen and J. Mood เป็นสกุลที่ได้รับการเสนอตั้งเป็นพืชสกุลใหม่ของโลกในปี ค.ศ.1998 โดย Prof. K. Larsen และ Mr. John Mood พืชต้นแบบเก็บจากป่าดิบชื้นใน อ.สุไหงปาดี จ.นราธิวาส โดยคุณพูนศักดิ์ วัชรากร นำมาปลูกที่สวนนงนุช จ.ชลบุรี สำหรับตัวอย่างพืชต้นแบบ เก็บอยู่ที่พิพิธภัณฑ์พืชมหาวิทยาลัยอาร์ฮุส ประเทศเดนมาร์ก

1.8.1 ***Siamanthus siliquosus*** K. Larsen and J. Mood เป็นพืชชนิดเดียวในสกุล *Siamanthus* ดอกมีลักษณะเป็นเอกลักษณ์คือ กลีบเลี้ยงมี 2 แฉก ซึ่งพบได้ยากในสกุลอื่น กลีบดอก 2 กลีบข้าง (lateral corolla lobes) หลอมติดกับแผ่นกลีบปาก lateral staminodes ลดรูปหายไป ก้านเกสรตัวผู้ยืดยาวมาก อาจถึง 20 เซ็นติเมตร เป็นพืชที่มีช่อดอกขนาดใหญ่ มีดอกสีแสดและเหลืองสด สะดุดตาและสวยงามมาก

**2. Tribe GLOBBEAE** มี 4 สกุล ในประเทศไทยพบ 3 สกุล คือ

**2.1 *Gagnepainia*** K. Schum. เป็นพืชหายากสำหรับประเทศไทย มีบันทึกไว้ 2 ชนิด (Larsen, 1996)

**2.2 *Globba*** L. (สกุลข่าลิง หรือหงส์เหิน) เป็นสกุลที่มีจำนวนชนิดพืชมากอีกสกุลหนึ่งของพืชวงศ์ขิงของไทย คาดว่าในประเทศไทยมีถึง 40 ชนิด ยังไม่ได้มีการศึกษาทบทวนด้านอนุกรมวิธาน แต่ได้มีผู้สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์พืชหลายแห่ง มีบันทึกว่าพบในประเทศไทยแล้ว 34 ชนิด (Larsen, 1996) ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

2.2.1 ***Globba albiflora*** Ridl. เป็นพืชพื้นเมืองของมาเลเซีย กระจายพันธุ์บริเวณภาคใต้ของประเทศไทย แต่ค่อนข้างพบยาก เคยพบที่น้ำตกบริพัตร จ.สงขลา ต้นสูงประมาณ 60-80 เซ็นติเมตร ช่อดอกมีดอกเรียงกระจายห่าง ดอกขนาดเล็กสีขาว

2.2.2 ***G. cernua*** Bak. เป็นพืชท้องถิ่นของมาเลเซียอีกชนิดหนึ่ง และกระจายพันธุ์ไปยังอินเดีย ในประเทศไทยพบบริเวณชายแดนภาคใต้ เช่น จ.ยะลา และนราธิวาส ชวลิต (2543) และ Maknoi (2001) ได้รายงานพบที่บริเวณป่าฮาลา-บาลา เป็นพืชที่มีดอกสวยงาม ช่อดอกออกตรงปลายยอดของลำต้น ริ้วประดับ และดอกมีสีเหลืองสด

2.2.3 ***G. patens*** Miq. กระจายพันธุ์อยู่ในมาเลเซีย และภาคใต้ของประเทศไทย บริเวณ จ. ยะลา และนราธิวาส ดอกมักรวมตัวเป็นกระจุกอยู่ปลายช่อ มีสีเหลือง หรือสีส้ม เหมาะที่จะนำมาพัฒนาเป็นไม้ประดับ

2.2.4 ***G. winitii*** Wright (หงส์เหิน) เป็นพืชประจำถิ่นของไทย ชื่อพืชนี้ได้ตั้งเป็นเกียรติแก่พระยาวินิจวนันดร นักพฤกษศาสตร์ผู้มีชื่อเสียงของไทย พบมากทางภาคเหนือและภาคกลาง ช่อดอกออกตรงปลายยอดของลำต้นแล้ว

ห้อยลง ริ้วประดับขนาดใหญ่ มีทั้งชนิดสีม่วงและสีขาว สวยงามมาก ได้พัฒนาเป็นไม้ประดับแพร่หลายไปทั่วโลก

**2.3. *Hemiorchis*** Kurz Larsen and Triboun (2000) ได้รายงานพบครั้งแรกในประเทศไทย 1 ชนิด คือ *H. rhodorrhachis* K.Schum. จาก จ.แม่ฮ่องสอน

**3. Tribe HEDYCHIEAE** มีประมาณ 10 สกุล

**3.1 *Boesenbergia*** O. Kuntze (สกุลกระชาย) พืชสกุลนี้มีประมาณ 60 ชนิด ในประเทศไทยได้มีการศึกษาทบทวนแล้วโดยผู้เขียน และได้บันทึกไว้จำนวน 13 ชนิด (Sirirugsa, 1992a) ต่อมา Larsen (1993) ได้พบชนิดใหม่สำหรับประเทศไทยอีก 1 ชนิดจาก จ.กระบี่ และ Larsen (1997) ได้รายงานพบชนิดใหม่อีก 2 ชนิด จาก จ.เพชรบุรี และตรัง พร้อมทั้งได้ย้ายสกุล *Curcumorpha* ไปเป็นสกุล *Boesenbergia* ด้วย พืชสกุลกระชายเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก พบเป็นพืชชั้นล่างทั่วไปของป่าดิบชื้น ในภาคใต้ของประเทศไทย และพบได้เป็นบางแห่งในป่าผลัดใบ ในภาคเหนือและภาคอื่นๆ ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

3.1.1 ***Boesenbergia basispicata*** K. Larsen ex Sirirugsa (กระชายเขาหลวง/โดยผู้เขียน) พบครั้งแรกที่อุทยานแห่งชาติเขาหลวง จ.นครศรีธรรมราช โดย Dr. Kerr เมื่อปี ค.ศ.1926 และได้ตั้งชื่อเป็นพืชชนิดใหม่ของโลกในปี ค.ศ.1987 (Sirirugsa, 1987) พืชชนิดนี้มีไรโซมผอมบาง มีกลิ่นน้อยมาก ต้นเหนือดินสูงประมาณ 30-50 เซ็นติเมตร กาบใบมีสีเขียวเรื่อแดง ด้านล่างของใบมีสีเขียวอ่อน หรือเขียวเรื่อแดง ช่อดอกออกด้านข้างชิดกับลำต้น ประกอบด้วยริ้วประดับ (bract) เรียงซ้อนกันแน่น สีแดงคล้ำ ช่อดอกรูปร่างคล้ายกรวยฐานกว้าง ค่อยๆ เรียวไปหาปลายช่อ ดอกมีขนาดเล็ก สีขาว กลีบปาก (lip) เป็นกระพุ้งค่อนข้างลึก มีแต้มสีแดงประปรายตรงกลางแผ่น

3.1.2 ***B. curtisii*** (Bak.) Schltr. เป็นพืชที่ชอบขึ้นบริเวณเขาหินปูน พบมากบริเวณภาคใต้ตั้งแต่ จ.ชุมพร ไปถึงนราธิวาส ภาคอื่นพบน้อย เช่น จ.ชลบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ช่อดอกประกอบด้วยดอกย่อยจำนวนมาก อัดกันแน่น ช่อค่อนข้างสั้น เกิดกลางต้นระหว่างกาบใบคู่ในสุด

3.1.3 ***B. plicata*** (Ridl.) Holtt. พบมากบริเวณภาคใต้ กระจัดกระจายทั่วไปตั้งแต่ จ.ชุมพร ถึงชายแดนไทย-มาเลเซีย ของ จ.ยะลา และนราธิวาส ชอบขึ้นบริเวณเขาหินปูน พืชชนิดนี้มีลักษณะเด่นคือ ช่อดอก ซึ่งเกิดอยู่ระหว่างกาบใบคู่ในสุด มีขนาดยาว อาจยาวถึง 25 เซ็นติเมตร นับว่ายาวที่สุดในสกุลนี้ มีต้นที่ออกดอกสีเหลือง และบางต้นออกดอกสีแดง Holttum (1950) ได้แยกชนิดดอกสีแดงเป็นอีก variety หนึ่ง คือ *B. plicata* var. *lurida* (Ridl.) Holtt.

3.1.4 ***B. prainiana*** (Bak.) Schltr. (กะทือแดง) ชอบขึ้นในที่ชื้นใกล้ลำธาร พบที่ จ.ปัตตานี ยะลา และนราธิวาส ช่อดอกมีรูปร่างคล้าย “กระชายเขาหลวง” แต่เกิดกลางต้น และริ้วประดับมีสีเขียวอ่อน นอกจากนั้น มีกาบใบและแผ่นใบกว้างกว่า

3.1.5 ***B. pulcherrima*** (Wall.) Kuntze (บุษบง) พบได้เกือบทั่วทุกภาคของประเทศไทย แต่พบมากบริเวณภาคเหนือ เช่น จ.เชียงใหม่ พิษณุโลก และตาก เป็นต้น มีลำต้นเหนือดินค่อนข้างผอม สูงถึง 50 เซ็นติเมตร ช่อดอกเกิดอยู่ระหว่างกาบใบคู่ในสุด และชูช่อเหนือกาบใบเห็นได้ชัดเจน ดอกมีสีขาวหรือเหลืองนวล และมีแถบสีแดงแต้มอยู่กลางแผ่นกลีบปาก

3.1.6 ***B. rotunda*** (L.) Mansf. (กระชาย) ชื่อพ้องคือ *B. pandurata* (Roxb.) Schltr. เป็นพืชที่ปลูกกันทั่วไปในประเทศไทย จนกลายเป็นพืชเศรษฐกิจอย่างหนึ่ง เนื่องจากไรโซมและรากของพืชชนิดนี้มีกลิ่นหอม นิยมนำมาใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งรสอาหาร และยังเป็นพืชสมุนไพรด้วย ช่อดอกถูกโอบหุ้มด้วยกาบใบคู่ในสุดจนเกือบมิด แต่เมื่อดอกบานจะชูขึ้นเหนือกาบใบให้เห็นได้อย่างชัดเจน ดอกมีสีม่วง

**3.2 *Caulokaemferia*** K. Larsen (สกุลเปราะต้น) พืชสกุลนี้ได้ถูกแยกออกจากสกุล *Kaempferia* โดย Larsen (1964) กระจายพันธุ์ตั้งแต่อินเดียตอนเหนือ มายังประเทศจีนตอนใต้ และประเทศไทย พบในประเทศไทยประมาณ 5 ชนิด ซึ่งทั้งหมดเป็นพืชประจำถิ่นของไทย และขึ้นอยู่ในบริเวณจำกัด ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

3.2.1 ***Caulokaempferia saksuwaniae*** K. Larsen เป็นพืชประจำถิ่นของ จ.พังงา ชอบขึ้นบริเวณเขาหินปูนและใกล้น้ำตก เป็นพืชขนาดเล็ก ต้นผอมบาง ดอกสีเหลืองสด จัดเป็นพืชประเภทหายากชนิดหนึ่ง

**3.3 *Cautleya*** Hook.f. สกุลนี้ประกอบด้วยพืชประมาณ 5 ชนิด ในประเทศไทยพบเพียงชนิดเดียวคือ *Cautleya gracilis* (L.) Dandy เป็นพืชอิงอาศัยอยู่บนต้นไม้อื่น ชอบขึ้นบนภูเขาที่มีระดับความสูงมาก จัดเป็นพืชหายาก ชนิดนี้

พบที่ดอยอินทนนท์ ใกล้กับชายแดนไทย-พม่า

**3.4 *Cornukaempferia*** J. Mood and K. Larsen เป็นพืชสกุลใหม่ของวงศ์ขิงจากประเทศไทย ซึ่งเสนอตั้งโดย Mr. John Mood และ Prof. K. Larsen (1997) และชนิดแรกที่ได้บรรยาย คือ *Cornukaempferia aurantiaca* ต่อมาได้พบชนิดใหม่ในสกุลนี้อีกชนิดหนึ่งคือ *C. longipetiolata* (Mood and Larsen, 1999) พืชในสกุลนี้มีใบคล้ายคลึงกับสกุลเปราะมาก แต่มีส่วนที่แตกต่างกับที่สามารถจัดเป็นสกุลใหม่ได้คือ ส่วนของกลีบปาก ที่มีปลายมนตลอด ไม่มีรอยแยกเป็น 2 ส่วน และมี anther crest ที่ยาวและโค้งงอ ซึ่ง 2 ลักษณะดังกล่าว จะไม่พบในสกุลเปราะ

**3.5 *Curcuma*** L. (สกุลขมิ้น-กระเจียว) เป็นสกุลที่มีจำนวนชนิดมากอีกสกุลหนึ่ง สำหรับในประเทศไทยอยู่ในระหว่างการศึกษาทบทวนด้านอนุกรมวิธาน สำหรับข้อมูลเบื้องต้นประเมินได้ว่า อาจพบพืชในสกุลนี้ในประเทศไทยได้ไม่ต่ำกว่า 50 ชนิด สามารถจำแนกชนิดได้แล้ว 26 ชนิด (Sirirugsa, 1996) และมีมากกว่า 10 ชนิด ที่เชื่อว่าจะเป็นชนิดใหม่ของโลก ลักษณะของพืชในสกุลกระเจียวคือ ลำต้นใต้ดินประกอบด้วยเหง้า (rootstock หรือ bulb) มีลักษณะเป็นหัวตั้งฉากกับพื้นดิน รูปร่างกลมหรือรูปไข่ และมักอวบอ้วน ขนาดเล็กถึงใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1-8 เซ็นติเมตร และส่วนที่เป็นไรโซมแตกแขนงจากเหง้าขนานกับพื้นดิน ลักษณะอวบเช่นกัน ส่วนปลายรากมักสร้างหัว (tuber) มีรูปร่างกลม หรือคล้ายกระสวย สำหรับสะสมอาหาร ช่อดอกอาจออกตรงส่วนยอดของลำต้น หรือด้านข้างของลำต้นก็ได้ ลักษณะเด่นของช่อดอกคือประกอบด้วยริ้วประดับที่มีขนาดใหญ่ และแต่ละอันจะเชื่อมติดกันตั้งแต่ฐานจนถึงประมาณกลางแผ่น ในบางชนิด ริ้วประดับตรงปลายช่ออาจมี 5-9 แผ่น ไม่สร้างดอก เป็นริ้วประดับที่เป็นหมัน (sterile bracts) มีชื่อเฉพาะว่า “coma” และมักมีสีสวยงาม พืชหลายชนิดในสกุลนี้ได้นำมาใช้ประโยชน์ ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจมาก ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

3.5.1 ***Curcuma aeruginosa*** Roxb. (ว่านมหาเมฆ) เป็นพืชพื้นเมืองของพม่า และกระจายพันธุ์ไปสู่อินเดีย อินโดจีน มาเลเซีย อินโดนีเซีย และศรีลังกา ในประเทศไทยพบมากในป่าเต็งรัง และมีการปลูกกันทั่วไป ลักษณะเด่นที่สามารถจำแนกจากชนิดอื่นๆ ในสกุลนี้คือ มีไรโซมสีน้ำเงิน และมีกลีบดอกสีแดง ไรโซมใช้เป็นยาสมุนไพร เช่น ในอินโดจีนใช้แก้โรคลำไส้ ในมาเลเซียใช้แก้โรคหืดหอบ และในอินโดนีเซียใช้เป็นยาภายนอกรักษาโรค exanthema คนพื้นเมืองภาคใต้ใช้แก้พิษงู เป็นต้น

3.5.2 ***C. aurantiaca*** van Zijp (เพชรทักษิณ) เป็นพืชท้องถิ่นของประเทศศรีลังกา กระจายพันธุ์ไปยังชวา มาเลเซีย และภาคใต้ของประเทศไทย ลักษณะเด่นคือ ริ้วประดับสีเขียวเรื่อสีส้ม หรือสีน้ำตาล “coma” สีชมพู ดอกสีเหลืองส้ม และที่แตกต่างจากชนิดอื่นในสกุลเดียวกันคือ อับเรณูไม่มีจะงอยตรงฐาน ได้พัฒนาเป็นไม้ประดับที่สวยงาม

3.5.3 ***C. ecomata*** Craib เป็นพืชพื้นเมืองของไทย พบที่ จ.เชียงใหม่ (ดอยสุเทพ) ช่อดอกเกิดจากไรโซมที่ยังไม่สร้างใบ รูปร่างรีหรือรูปไข่ ยาว 5-8 เซ็นติเมตร ริ้วประดับมีสีเขียว ไม่มี “coma” ดอกมีสีม่วง แผ่นกลีบปากมีแถบสีเหลืองตามยาวบริเวณกลางแผ่น

3.5.4 ***C. harmandii*** Gagnep. เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศเวียดนาม ในประเทศไทยพบที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง (เขาสามหลั่น จ.สระบุรี) ลักษณะเด่นของพืชชนิดนี้คือ ริ้วประดับมีสีเขียวเข้ม มีฐานกว้าง แล้วเรียวแหลมไปหาปลาย ส่วนปลายจะชี้ออกมาค่อนข้างตั้งฉากกับแกนช่อ

3.5.5 ***C. petiolata*** Wall. เป็นพืชพื้นเมืองของพม่า ในประเทศไทยพบในบริเวณภาคเหนือ พืชชนิดนี้มีช่อดอกขนาดใหญ่ ริ้วประดับบริเวณยอดของช่อ หรือ “coma” มีสีชมพู ดอกมีสีขาว และมีแถบเหลืองทาบตามยาวตรงกลางของแผ่นกลีบปาก

3.5.6 ***C. rhabdota*** Sirirugsa and Newman (บัวโกเมน) ได้วางขายในตลาดช่องเม็ก จ.อุบลราชธานี ชายแดนไทย-ลาว มาเป็นเวลานาน เพื่อปลูกเป็นไม้ประดับ แพร่หลายอยู่ในประเทศไทยและต่างประเทศ และรู้จักกันเพียงเป็นพืชสกุลกระเจียวชนิดหนึ่ง โดยมีชื่อไทยว่า “บัวโกเมน” แพร่กระจายอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยและลาว ยังไม่เคยมีชื่อทางพฤกษศาสตร์มาก่อน Sirirugsa and Newman (2000) จึงได้เสนอตั้งชื่อเป็นชนิดใหม่ของโลกเมื่อเร็วๆ นี้ ในปัจจุบันเชื่อว่าคงหาพบได้ยากในธรรมชาติ

3.5.7 ***C. roscoeana*** Wall. (ขมิ้นแดง) เป็นพืชพื้นเมืองของพม่าอีกชนิดหนึ่ง ในประเทศไทยพบในบริเวณภาคเหนือ

และ จ.กาญจนบุรี เป็นไม้ประดับที่นำออกสู่ตลาดนานมาแล้ว ลักษณะเด่นคือ มีริ้วประดับสีส้ม หรือแดงอมส้ม ไม่มี “coma”

3.5.8 ***C. rubescens*** Roxb. เป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย กระจายพันธุ์มายังภาคใต้ของประเทศไทย ดร.พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์ จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เป็นผู้เก็บรวบรวมพืชชนิดนี้ และนำมาขยายพันธุ์ ลักษณะเด่นคือ ก้านใบและกาบใบมีสีแดงเข้ม ช่อดอกมีขนาดใหญ่ ริ้วประดับปลายช่อมีสีแดงเข้ม ใช้ปลูกเป็นไม้ประดับ

3.5.9 ***C. sparganifolia*** Gagnep. เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศเวียดนาม ประเทศไทยได้นำมาปลูกเป็นไม้ประดับนานมาแล้ว และขยายพันธุ์อย่างแพร่หลาย ลักษณะเด่นคือ ต้นขนาดเล็ก ใบเรียวยาวคล้ายใบหญ้า แต่เมื่อนำมาปลูก ใบอาจผันแปรขยายกว้างขึ้นกว่าธรรมชาติ ช่อดอกออกกลางลำต้น ก้านช่อผอมยาว ริ้วประดับค่อนข้างกลม สีชมพูสด และทนทาน ใช้เป็นไม้ประดับที่สวยงาม

3.5.10 ***C. thorelii*** Gagnep. เป็นพืชพื้นเมืองของลาว ในประเทศไทยพบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปัจจุบันได้พัฒนาเป็นไม้ประดับออกสู่ตลาดแล้ว ลักษณะเด่นคือ ช่อดอกเกิดกลางต้น ริ้วประดับที่มีดอก มีสีเขียว ส่วนริ้วประดับส่วนปลายด้านบนของช่อ หรือ “coma” มีสีขาว ส่วนปลายแหลม อาจชูตั้งขึ้น มีความสวยงามเหมาะเป็นไม้ประดับมาก ส่วนของดอกทั้ง staminodes และกลีบปากมีสีม่วง

3.5.11 ***C. xanthorhiza*** Roxb. (ว่านชักมดลูก) กระจายพันธุ์อยู่ในอินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย ในประเทศไทยพบทางเหนือ (เชียงใหม่) ตะวันออกเฉียงใต้ (จันทบุรี และตราด) และใต้ (พังงา) ลักษณะเด่นคือ ไรโซมขนาดใหญ่ กลมหรือรูปไข่ สีเหลืองเข้มอมส้ม ไรโซมใช้เป็นยาสมุนไพร และทำเครื่องสำอาง

3.5.12 ***C. zedoaria*** Rosc. (ขมิ้นอ้อย) กระจายพันธุ์อยู่ในอินเดีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยพบบริเวณภาคเหนือ (เชียงราย และเชียงใหม่) ภาคตะวันออก (นครราชสีมา) ภาคกลาง (สระบุรี) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ตราด) ลักษณะเด่นคือ มีไรโซมสีเหลืองอ่อนหรือขาว กลิ่นคล้ายการบูร “coma” สีแดงเข้ม หรือสีม่วง มีการปลูกกันหลายแห่ง ไรโซมใช้เป็นยาสมุนไพร

**3.6** ***Haniffia*** Holttum พืชสกุลนี้ได้ศึกษาทบทวนด้านอนุกรมวิธาน โดย K. Larsen and J. Mood (2000) ซึ่งมีอยู่ 2 ชนิด และได้เสนอ *Haniffia albiflora* เป็นพืชชนิดใหม่ของโลก ส่วนอีกชนิดหนึ่งคือ *H. cyanescens* (Ridl.) Holttum เชื่อว่าพบได้ในบริเวณภาคใต้ของประเทศไทยด้วย

3.6.1 ***Haniffia albiflora*** K. Larsen and J. Mood พบที่ จ.นราธิวาส เป็นพืชขนาดเล็กมีลำต้นเหนือดิน สูงประมาณ 70 เซ็นติเมตร ช่อดอกออกด้านข้างของลำต้น 1-2 ช่อ ริ้วประดับมีสีแดง ดอกมีสีขาว และกลีบปากมีแต้มสีเหลืองบริเวณฐาน

**3.7** ***Hedychium*** Koenig (สกุลมหาหงส์) พืชสกุลนี้มีประมาณ 80 ชนิด แหล่งที่พบมากคือ หิมาลัยตะวันออก แถบอินเดียตอนใต้ และจีนตอนใต้ ในประเทศไทยอยู่ในระหว่างการศึกษาทบทวนโดยผู้เขียน คาดว่ามีมากกว่า 20 ชนิด และส่วนใหญ่พบบริเวณภาคเหนือของประเทศ อาจพบบางชนิดเป็นพืชอิงอาศัยอยู่บนต้นไม้อื่น หรือพบบนก้อนหิน หรือในชนิดเดียวกัน อาจเป็นได้ทั้งแบบขึ้นบนดิน และแบบอิงอาศัย ช่อดอกออกตรงปลายยอดของลำต้นเหนือดิน ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

3.7.1 ***Hedychium coccineum*** Ham. ex Smith (ข่าดง) มีแหล่งกระจายพันธุ์อยู่ในแถบอินเดีย พม่า และอินโดจีน ในประเทศไทยพบที่เชียงใหม่ (ดอยสุเทพ ดอยเชียงดาว) หรือ จ.ใกล้เคียง ลำต้นเหนือดินอาจสูงถึง 3 เมตร มีช่อดอกยาว ดอกมีสีเหลือง และเรียงตัวห่างบนแกนช่อ เหมาะที่จะใช้เป็นไม้ประดับ

3.7.2 ***H. coronarium*** Koen. (มหาหงส์) พืชชนิดนี้กระจายอยู่ในแถบอินเดีย พม่า และภาคเหนือของประเทศไทย ปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศเขตร้อน ดอกสีขาวขนาดใหญ่ และมีกลิ่นหอม นิยมปลูกเป็นไม้ประดับ ไรโซมใช้เป็นยาสมุนไพร

3.7.3 ***H. ellipticum*** Ham. ex Smith (ตาเหินไหว) พืชชนิดนี้กระจายพันธุ์ในแถบอินเดีย หิมาลัย และพม่า ในประเทศไทยพบทางภาคเหนือ เช่น จ.เชียงใหม่ (ดอยเชียงดาว ดอยสุเทพ) และพิษณุโลก ในภาคอีสาน เช่น จ.เลย (ภูกระดึง) และนครราชสีมา เป็นต้น ลำต้นเหนือดินสูงประมาณ 1 เมตร ช่อดอกมีดอกจำนวนมากและเรียงกันแน่นบน

แกนช่อ ดอกสีเหลือง เหมาะเป็นไม้ประดับ

3.7.4 ***H. gardnerianum*** Shepperd ex Ker-Gawler เป็นพืชท้องถิ่นหิมาลัย กระจายแถบอินเดีย และเนปาล ในประเทศไทยพบที่ดอยสุเทพ จ.เชียงใหม่ ลำต้นเหนือดินสูง 1-2 เมตร ช่อดอกมีขนาดใหญ่ ดอกเรียงตัวค่อนข้างแน่นบนแกนช่อ มีสีเหลืองสด ใช้เป็นไม้ประดับ

3.7.5 ***H. longicornutum*** Griff. ex Bak. (ปุดเดือน) เป็นพืชท้องถิ่นของมาเลเซีย ในประเทศไทยพบที่ จ.นราธิวาส เป็นพืชอิงอาศัยบนต้นไม้อื่น ช่อดอกมีแกนช่อสั้น ดอกจึงเรียงอัดแน่น ริ้วประดับมีสีแดงเด่น และดอกมีสีเหลือง ลักษณะเด่นคือ มีรากยาวและอวบ ก่ายกันไปมา มีลักษณะคล้ายไส้เดือน

3.7.6 ***H. stenopetalum*** Lodd. (ตาเหินหลวง) กระจายพันธุ์ในแถบอินเดีย พม่า และอินโดนีเซีย ชอบขึ้นใกล้ลำธารในป่าดิบชื้น พืชนี้มีลักษณะเด่นคือ ใบมีขนาดใหญ่ หลังใบมีขนยาวและหยาบ ช่อดอกขนาดใหญ่ มีแกนช่ออวบมีขน ดอกเรียงตัวไม่แน่นบนแกนช่อ และมีสีขาว

3.7.7 ***H. villosum*** Wall. (ตาเหิน) กระจายพันธุ์อย่างกว้างขวาง ตั้งแต่อินเดีย ธิเบต พม่า อินโดจีน จีนตอนใต้ และมาเลเซีย เป็นพืชอิงอาศัยอยู่บนต้นไม้อื่นหรือบนก้อนหิน ชอบขึ้นในที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 900 เมตรขึ้นไป ในประเทศไทยพบในภาคเหนือคือ จ.เชียงใหม่ (ดอยเชียงดาว ภูเมี่ยง) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ จ. เลย (ภูกระดึง) ช่อดอกมีแกนดอกยาว ดอกเรียงตัวค่อนข้างแน่นตามแกนช่อ ดอกมีสีขาว ยกเว้นเกสรตัวผู้มีสีแดงหรือสีส้ม ช่อดอกสวยงามเหมาะเป็นไม้ประดับ

**3.8** ***Kaempferia*** L. (สกุลเปราะ) เป็นสกุลที่มีจำนวนชนิดมากอีกสกุลหนึ่งของวงศ์ขิง คือ ประมาณ 60 ชนิด ในประเทศไทยได้มีการศึกษาทบทวนด้านอนุกรมวิธาน และรายงานพืชสกุลเปราะของไทยไว้จำนวน 15 ชนิด (Sirirugsa, 1992b) ต่อมา Jenjittikul and Larsen (2000) ได้พบ *K. candida* Wall. เพิ่มขึ้นอีก 1 ชนิด พืชในสกุลนี้มีลำต้นที่ชูเหนือดินค่อนข้างสั้นมาก ใบมักแผ่ราบกับพื้นดิน ช่อดอกออกตรงกลางต้นระหว่างกาบใบคู่ในสุด ไรโซมมักอวบ หลายชนิดมีคุณค่าเป็นยาสมุนไพร และเป็นเครื่องเทศปรุงรสอาหาร ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

3.8.1 ***Kaempferia angustifolia*** Rosc. (เฒ่าหนังแห้ง, ปราบสมุทร ) พบครั้งแรกในอินเดีย ในประเทศไทยพบที่ จ.อุบลราชธานี และราชบุรี แต่ได้มีการนำมาปลูกกันทั่วไป แผ่นใบมีความผันแปรสูง อาจมีรูปร่างยาวเรียว หรือกว้าง แล้วค่อยเรียวไปหายอด ดอกมีสีขาว กลางแผ่นกลีบปากมีแต้มสีม่วง

3.8.2 ***K. elegans*** Wall. ex Bak.เป็นพืชพื้นเมืองของพม่า กระจายพันธุ์ไปยังอินเดีย มาเลเซีย ในประเทศไทยพบได้ทั้งภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และภาคใต้ ชอบขึ้นริมลำธาร และเขาหินปูน ลักษณะเด่นคือ มีใบขนาดใหญ่ มักมี 2 ใบ และชูตั้งขึ้น ช่อดอกมีก้านช่อค่อนข้างยาว ชูดอกที่มีสีชมพู ค่อนข้างเด่น เหมาะที่จะทำเป็นไม้กระถางใช้ประดับ

3.8.3 ***K. larsenii*** Sirirugsa (เปราะลาร์เสน) เป็นพืชประจำถิ่นของไทย พบครั้งแรกที่ จ.อุบลราชธานี ได้รับการตั้งชื่อเพื่อเป็นเกียรติแก่ Prof. Kai Larsen นักพฤกษศาสตร์เดนมาร์ก ผู้ริเริ่มศึกษาพืชวงศ์ขิงของไทย และมีบทบาทสำคัญในการศึกษาพืชวงศ์นี้ในเวลาต่อมา พืชนี้มีใบยาวเรียวคล้ายหญ้า ดอกสีชมพู

3.8.4 ***K. parviflora*** Wall. ex Bak. (กระชายดำ) กระจายพันธุ์อยู่ในพม่า และอินเดีย ในประเทศไทยพบที่ จ.ตาก และกาญจนบุรี ดอกมีขนาดเล็กกว่าชนิดอื่นๆ ในสกุลนี้ มีสีขาวปนม่วง ไรโซมมีสีม่วง กาบใบและก้านใบยาว ยกใบตั้งขึ้น มองผิวเผินพืชนี้มีลักษณะคล้ายคลึงกับพืชสกุลกระชาย จึงมีผู้ให้ชื่อว่า “กระชายดำ” โดยเข้าใจผิดว่าเป็นกระชายชนิดหนึ่ง

3.8.5 ***K. roscoeana*** Wall. (เปราะป่า) เป็นอีกชนิดหนึ่งที่กระจายพันธุ์อยู่ในแถบพม่า และอินเดีย ในประเทศไทยพบทางภาคเหนือ ได้แก่ จ.เชียงใหม่ และตาก และทางภาคตะวันตกเฉียงใต้ ได้แก่ จ.กาญจนบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ส่วนมากจะพบบริเวณป่าไผ่ ต้นมักประกอบด้วย 2 ใบ ขนาดกว้างเกือบกลม แผ่ราบกับพื้น มีสีเขียวเข้ม และมักมีลายด่าง ดอกมีสีขาว และมีจุดสีเหลืองตรงบริเวณศูนย์กลาง

3.8.6 ***K. rotunda*** L. (ว่านหาวนอน, ตูบหมูบ) เป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย กระจายพันธุ์สู่ศรีลังกา อินโดจีน มาเลเซีย อินโดนีเซีย ในประเทศไทยพบมากทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นอกจากนั้นพบที่ จ.สระบุรี ชลบุรี และกาญจนบุรี เป็นต้น พบว่าส่วนใหญ่เมื่อสร้างดอกจะยังไม่เกิดใบ ดอกมีสีม่วง ไรโซมและรากเป็นยาสมุนไพร

**3.9 *Scaphochlamys*** Bak. เป็นพืชขนาดเล็กคล้ายสกุลกระชายและเปราะ กระจายพันธุ์อยู่ในที่จำกัด บริเวณคาบสมุทรมลายู ทั้งสกุลมีมากกว่า 20 ชนิด ในประเทศไทยพืชสกุลนี้จัดว่าหายาก พบประมาณ 2 ชนิดในบริเวณชายแดนไทย-มาเลเซีย ของ จ.ยะลา และนราธิวาส ตัวอย่างที่พบ ในประเทศไทย เช่น

3.9.1 ***Scaphochlamys obcordata*** Sirirugsa and K. Larsen พบครั้งแรกที่น้ำตกบาโจ จ.นราธิวาส และได้บรรยายเป็นพืชชนิดใหม่ของโลก (Sirirugsa and Larsen, 1991) ลำต้นเหนือดินสั้น ใบค่อนข้างกว้าง ดอกมีสีขาว แผ่นกลีบปาก มีรูปร่างเป็นรูปหัวใจกลับ

**3.10 *Stahlianthus*** O. Kuntze พืชสกุลนี้มีจำนวนชนิดน้อย และค่อนข้างหายากในประเทศไทย เป็นพืชขนาดเล็กใบคล้ายใบหญ้า ในประเทศไทยอาจพบได้ 1-2 ชนิด ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

3.10.1 ***Stahlianthus campanulatus*** Kuntze กระจายพันธุ์ในแถบอินโดจีน และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ลำต้นเหนือดินสั้นมาก มักเห็นเพียงใบชูขึ้นมา ประกอบด้วย 2-3 ใบ ใบแคบเรียวคล้ายใบหญ้า ยาวประมาณ 10-20 เซ็นติเมตร ช่อดอกเล็ก ริ้วประดับชั้นนอกสุดเป็นรูประฆัง ดอกมีสีเหลืองอ่อนหรือขาว

**4. Tribe Zingiberaceae** มีเพียงสกุลเดียว คือ

4.1 ***Zingiber*** Boehm. (สกุลขิง) เป็นสกุลใหญ่ที่มีจำนวนชนิดมากอีกสกุลหนึ่งของวงศ์นี้ ได้มีการศึกษาทบทวนพืชสกุลขิงของไทย โดย Theilade and Maersk-Moller (1991) ได้รายงานเบื้องต้นพืชสกุลขิงในประเทศไทยไว้ (แต่ยังไม่เสร็จสมบูรณ์) จำนวน 33 ชนิด ตัวอย่างที่พบในประเทศไทย เช่น

4.1.1 ***Zingiber montanum*** (Koenig) Theilade (ไพล) ชื่อพ้อง*: Zingiber purpureum* Roscoe พืชชนิดนี้อาจเป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย ในประเทศไทยไม่พบในธรรมชาติ แต่ปลูกกันอย่างกว้างขวาง เพื่อใช้เป็นยาสมุนไพร ไรโซมมีสีเหลืองสด และกลิ่นฉุนแรง ช่อดอกมีรูปร่างรี และริ้วประดับมีสีม่วงดำ ดอกสีเหลืองนวลเกือบขาว

4.1.2 ***Z. ottensii*** Val. (ไพลดำ) เป็นพืชพื้นเมืองของอินโดนีเซีย กระจายไปยังมาเลเซีย ในประเทศไทยมีการปลูกกันทั่วประเทศ ไรโซมมีสีม่วงเข้ม ใช้เป็นยาสมุนไพร ริ้วประดับสีแดงส้ม หรือแดงเรื่อเขียว ดอกสีเหลือง ตรงกลีบปากมีจุดประสีชมพูอ่อน

4.1.3 ***Z. spectabile*** Griff. (จะเงาะ, ดากเงาะ) พืชชนิดนี้พบได้ทั่วไปในภาคใต้ของประเทศไทย และในมาเลเซีย เป็นชนิดที่มีช่อดอกขนาดใหญ่ที่สุดในสกุลขิง ริ้วประดับมีสีแดง หรือเหลือง มีลักษณะเด่นคือ ส่วนปลายของริ้วประดับจะงุ้มเข้าด้านใน และในซอกของริ้วประดับจะมีน้ำเมือก ดอกมีสีม่วงเข้ม ตรงแผ่นกลีบปาก มีจุดประสีเหลือง

4.1.4 ***Z. wrayi*** Ridl.(ปุดหวาน) เป็นพืชพื้นเมืองของมาเลเซีย ในประเทศไทยพบในเขตชายแดนไทย-มาเลเซีย มีลักษณะเด่นคือ ไรโซมมีสีม่วง และมีกลิ่นคล้ายลูกโป๊ยกั๊ก ช่อดอกประกอบด้วยริ้วประดับสีแดงเรียว ซ้อนกันแน่น ส่วนปลายมีลักษณะแหลม และชี้ออกจากแกนช่อ

4.1.5 ***Z. zerumbet*** (L.) Sm. (กระทือ) เป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย พม่า และอินโดจีน ในประเทศไทยพบทั่วไปในบริเวณพื้นล่างของป่าดิบชื้น และปลูกกันทั่วไปเพื่อใช้เป็นยาสมุนไพรด้วย และใบขนาดใหญ่ชนิดหนึ่งในสกุลขิง มีลักษณะเด่นคือ ช่อดอกแรกเกิดมีริ้วประดับสีเขียวเข้ม เมื่อแก่เต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ดอกสีเหลืองอ่อน

## บทสรุป

การศึกษาอนุกรมวิธานของพืชวงศ์ขิงของไทยได้มีความกาวหน้ามาแล้วระดับหนึ่ง เท่าที่ได้ศึกษาทบทวนแล้วใน tribe Alpinieae มีสกุล *Geostachy*s 3 ชนิด *Pomereschea* 1 ชนิด และ *Siamanthus* 1 ชนิด ใน tribe Hedychieae มีสกุล *Boesenbergia* 17 ชนิด *Caulokaempferia* 5 ชนิด *Cornukaempferia* 1 ชนิด *Kaempferia* 16 ชนิด และ *Scaphochlamys* 2 ชนิด และที่กำลังศึกษาอยู่คือ *Curcuma* ประมาณ 50 ชนิด และ *Hedychium* ประมาณ 20 ชนิด ใน tribe Zingibereae มีสกุล *Zingiber* ประมาณ 40 ชนิด กำลังศึกษาอยู่เช่นกัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าจำนวนพืชในวงศ์ขิงที่ได้ศึกษาและรู้จักกันดีนั้น ยังมีไม่ถึงร้อยละ 50 ยังต้องร่วมมือกันศึกษาพืชวงศ์อีกมาก เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ทั้งวงศ์ และสามารถตีพิมพ์ในวารสาร Flora of Thailand อันเป็นเป้าหมายที่สำคัญของการศึกษาพรรณพืชไทย นับเป็นสิ่งที่น่ายินดีที่ในปัจจุบันได้มีนักพฤกษศาสตร์สนใจศึกษาพืชวงศ์ขิงเพิ่มขึ้น

**ภาพตัวอย่างพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย (จากซ้ายไปขวา)**

**แถวที่ 1:** *Alpinia mutica* Roxb., *Amomum aculeatum* Roxb., *Amomum biflorum* Jack

**แถวที่ 2:** *Boesenbergia curtisii* (Bak.) Schltr., *Boesenbergia plicata* (Ridl.) Holtt. (ชนิดดอกสีเหลือง), *Boesenbergia pulcherrima* (Wall.) Kuntze

**แถวที่ 3:** *Caulokaempferia saksuwanae* K. Larsen, *Elettariopsis curtisii* Bak., *Elettariopsis smithiae* Kam

**แถวที่ 4:** *Etlingera corneri* J. Mood & H. Ibrahim, *Etlingera hemisphaerica* (Blume) R.M. Smith, *Etlingera littoralis* (Koenig) Giseke (ชนิดกลีบปากสีแดงส้วน)

**แถวที่ 5:** *Etlingera littoralis* (Koenig) Giseke, *Etlingera maingayi* (Bak.) R.M. Smith, *Etlingera metriocheilos* (Griff.) R.M. Smith

**แถวที่ 6:** *Etlingera punicea* (Roxb.) R.M. Smith, *Etlingera venusta* (Ridl.) R.M. Smith, *Geostachys angustifolia* K. Larsen

**ภาพตัวอย่างพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย (จากซ้ายไปขวา)(ต่อ)**

**แถวที่ 7:** *Globba albiflora* Ridl., *Globba cernua* Bak., *Globba patens* Miq.

**แถวที่ 8:** *Haniffia albiflora* K. Larsen & J. Mood, *Hedychium coccineum* Ham. ex Smith, *Hedychium longicornutum* Griff. ex Bak.

**แถวที่ 9:** *Hedychium villosum* Wall., *Hornstedtia leonurus* (Ridl.) Ridl., *Kaempferia angustifolia* Rosc.

**แถวที่ 10:** *Kaempferia larsenii* Sirirugsa, *Kaempferia parviflora* Wall. ex Bak., *Kaempferia roscoeana* Wall.

**แถวที่ 11:** *Kaempferia siamensis* Sirirugsa, *Scaphochlamys obcordata* Sirirugsa & K. Larsen, *Stahlianthus campanulatus* Kuntze

**ภาพตัวอย่างพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย (จากซ้ายไปขวา)(ต่อ)**

แถวที่ 12: *Alpinia conchigera* Griff., *Alpinia galanga* (L.) Willd., *Alpinia javanica* Blume, *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burtt & R.M. Smith, *Alpinia* aff. *Rafflesiana* Wall.

แถวที่ 13: *Amomum hastilabium* Ridl., *Boesenbergia basispicata* Sirirugsa ex K. Larsen, *Boesenbergia plicata* (Ridl.) Holtt., (ชนิดดอกสีแดง) *Boesenbergia prainiana* (Bak.) Schltr., *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.

แถวที่ 14: *Curcuma aurantiaca* van Zijp, *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Curcuma ecomata* Craib, *Curcuma harmandii* Gagnep., *Curcuma petiolata* Wall.

แถวที่ 15: *Curcuma rhabdota* Sirirugsa & Newman, *Curcuma roscoeana* Wall., *Curcuma rubescans* Roxb., *Curcuma sparganifolia* Gagnep., *Curcuma thorelii* Gagnep.

ภาพตัวอย่างพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย (จากซ้ายไปขวา)(ต่อ)

แถวที่ 16: *Kaempferia rotunda* L., *Curcuma xanthorhiza* Roxb., *Curcuma zedoaria* Rosc., *Globba winitii* Wright (ริ้วใบประดับสีขาว), *Globba winitii* Wright (ริ้วใบประดับสีม่วง)

แถวที่ 17: *Hedychium coronarium* Koenig, *Hedychium ellipticum* Ham. ex Smith, *Hedychium gardnerianum* Shepperd ex Ker-Gawler, *Hedychium stenopetalum* Lodd., *Hornstedtia conica* Ridl.

แถวที่ 18: *Honstedtia ophiucus* (Koenig) Retz., *Kaempferia elegans* Wall. ex Bak., *Zingiber montanum* (Koenig) Theilade, *Zingiber spectabile* Griff., *Zingiber zerumbet* (L.) Sm.

แถวที่ 19: *Zingiber ottensii* Val., *Zingiber wrayi* Ridl.

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 543048 ขอบคุณ อ.จรัล ลีรติวงศ์ และคุณกุศล แจ่มประเสริฐ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ได้ช่วยพิมพ์ต้นฉบับ ขอบคุณ ดร.พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์ ผู้อำนวยการศูนย์บริการการพัฒนาขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจากพระราชดำริ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้โอกาสผู้เขียนได้ร่วมงานในโครงการอนุรักษ์พันธุ์และพัฒนาพันธุ์พืชพื้นเมือง และขอขอบคุณ ประกาศ สว่างโชติ, จรัญ มากน้อย, ธวัชชัย สันติสุข, ปราโมทย์ ไตรบุญ, Kai Larsen และ Mark Newman ที่อนุเคราะห์ภาพสไลด์บางส่วนของพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย

## เอกสารอ้างอิง

ชวลิต นิยมธรรม, พิชา พิทยขจรวุฒิ, บำรุง ครุกานันต์ และอภิติ รัตนวิระกุล. 2543. พันธุ์ไม้ในป่าฮาลา-บาลา. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน) 1-152.

Burtt, B. L. and R. M. Smith. 1986. *Etlingera*:The inclusive name for *Achasma, Geanthus* and *Nicolaia* (Zingiberaceae). *Notes Roy.Bot.Gard.* Edinbg. 43: 235-241.

Dahlgren, R. M. T., H. T. Clifford and P. F. Yeo. 1985. The Families of the Monocotyledons. Springer-Verlag, Berlin.

Holttum, R. E., 1950. The Zingiberaceae of the Malay Peninsula. *Gard. Bull. Sing.* 13: 1-249.

Jenjittikul, T. and K. Larsen. 2000. *Kaempferia candida* Wall. (Zingiberaceae), a new record for Thailand.

Larsen, K. 1964. Studies in Zingiberaceae IV. *Caulokaempferia*, a new genus. *Bot. Tidsskr.* 60: 165-179.

Larsen, K. 1973. *Pommereschea lackneri* found in Thailand. *Nat.Hist. Bull. Siam Soc.* 24: 472-475.

Larsen, K. 1980. Annotated key to the genera of Zingiberaceae of Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 28: 151-169.

Larsen, K. 1986. *Geostachys angustifolia* sp.nov.(Zingiberaceae) from Thailand. *Nord. J.* 6: 31-33.

Larsen, K. 1993. *Boesenbergia tenuispicata* (Zingiberaceae): a new species from Thailand. *Nord. J. Bot.* 13: 281-283.

Larsen, K. 1997. Further studies in genus *Boesenbergia* (Zingiberaceae). *Nord. J. Bot.* 17: 361-366.

Larsen, K. 1996. A Preliminary checklist of the Zingiberaceae of Thailand. *Thai For. Bull.* 24: 35-49.

Larsen, K. and J. Mood. 1998. *Siamanthus*, a new genus of Zingiberaceae from Thailand. *Nord. J. Bot.* 18: 393-397.

Larsen, K. and J. Mood. 2000. Revision of the genus *Haniffia* (Zingiberaceae). *Nord. J. Bot.* 20: 285-289.

Larsen, K. and P. Triboun. 2000. *Hemiorchis rhodorrhachis* K. Schum. (Zingiberaceae), a new record for Thailand. *Thai For. Bull. (Bot)* 28: 39-43.

Maknoi, C. 2001. Diversity and Habitat Relationships of Zingiberaceae along Thai-Malaysian Border in Yala and Narathiwat Provinces. M.Sc. Thesis. Prince of Songkla Univ.

Mood, J. and K. Larsen. 1997. *Cornukaempferia*, A new genus of Zingiberaceae from Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 45: 217-221.

Mood, J. and K. Larsen. 1999. New to cultivation: the genus *Cornukaempferia* in Thailand with description of a second species. *The New Plantsman* 196-205.

Mood, J. and H. Ibrahim. 2000. A new species of *Etlingera* (Zingiberaceae) from Peninsular Malaysia and southern Thailand. *Nord. J. Bot.* 20: 279-283.

Sirirugsa, P. 1987. Three new species and one new combination in *Boesenbergia* (Zingiberaceae) from Thailand. *Nord. J. Bot.* 7: 421-425.

Sirirugsa, P. 1992a. A Revision of the genus *Boesenbergia* Kuntze (Zingiberaceae) in Thailand. *Nat. Hist. Siam Soc.* 40: 67-90.

Sirirugsa, P. 1992b. Taxonomy of the genus *Kaempferia* (Zingiberaceae) in Thailand. *Thai. For. Bull.* 19: 1-15.

Sirirugsa, P. 1996. The Genus *Curcuma* of Thailand. Proceedings of the Second Symposium on the Family

**ภาพตัวอย่างพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย (จากซ้ายไปขวา)(ต่อ)**

**แถวที่ 16:** *Kaempferia rotunda* L., *Curcuma xanthorhiza* Roxb., *Curcuma zedoaria* Rosc., *Globba winitii* Wright (ริ้วใบประดับสีขาว), *Globba winitii* Wright (ริ้วใบประดับสีม่วง)

**แถวที่ 17:** *Hedychium coronarium* Koenig, *Hedychium ellipticum* Ham. ex Smith, *Hedychium gardnerianum* Shepperd ex Ker-Gawler, *Hedychium stenopetalum* Lodd., *Hornstedtia conica* Ridl.

**แถวที่ 18:** *Honstedtia ophiucus* (Koenig) Retz., *Kaempferia elegans* Wall. ex Bak., *Zingiber montanum* (Koenig) Theilade, *Zingiber spectabile* Griff., *Zingiber zerumbet* (L.) Sm.

**แถวที่ 19:** *Zingiber ottensii* Val., *Zingiber wrayi* Ridl.

# Systematic Study of the Family Euphorbiaceae in Thailand

**Kongkanda Chayamarit[1], Thawatchai Santisuk[1], Kai Larsen, Peter van Welzen[3], Hans J. Esser[4], Weerachai Nanakorn[5], Pranom Chantharanothai[5], Teerawat Boonthavikoon[1], Rachan Pooma[1], Leena Phuphathanaphong[1], Chirayupin Chantharaprasong[1] and Supee Larsen[2]**

[1]Forest Herbarium, Royal Forest Department, Chatuchak, Bangkok 10900, [2]Department of Systematic Botany, Aarhus University, Denmark, [3]Rijksherbarium/Hortus Botanicus, Leiden, The Netherlands, [4]Hamburg, Germany, [5]Queen Sirikit Botanic Garden, Mae Rim District, Chiang Mai 50180, [6]Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Muang District, Khon Kaen 40002

**Abstract:** A revision of the family Euphorbiaceae in Thailand was done based on examination of herbarium specimens and extensive field observations in various parts of Thailand. 83 genera comprising 425 species are recognized; among these, 19 species are introduced. 10 species are described as new. 11 species await further study as there are inadequate specimens for description of new taxa. 13 species are recorded for the first time in Thailand. 49 species are found only in Thailand. 3 new combinations have been made, 1 of which is transferred to a new genus for Southeast Asia. 1 species is raised from infraspecific status, while 3 are reduced to varieties. 3 species are misidentified. 28 new synonyms are proposed. Keys to all genera and species with full descriptions, distributions and uses, and with illustrations and colour pictures, will be presented in the Flora of Thailand, volume 8, parts 1 & 2, in the year 2002. Therefore, only a summary will be included here.

**Key words:** Euphorbiaceae, taxonomy

## Introduction

The Euphorbiaceae is a large and important dicot family and is conspicuous throughout the tropics. It is the sixth biggest family of the flowering plants (after Orchidaceae, Compositae, Leguminosae, Gramineae, and Rubiaceae). It comprises 313 genera and an estimated 8,100 species (Mabberley, 1997). It is extremely diverse and there is much taxonomic confusion within the family.

Adrien Jussieu (1824) identified the major series of genera that (after much later revision) correspond roughly to current subfamilies. Jean Mueller (1866) provided the first detailed classification of the family into subfamilies, tribes, and subtribes, which reflect phylogenetic affinity as presently understood. The original classification of Mueller is particularly striking in comparison with the earlier system of Baillon (1858), which was uninformative about relationships, and the later ones of Bentham (1880) and Pax (1890), who accepted the general framework of Mueller with relatively minor exceptions. Later revisions by Pax and K. Hoffman (1931) and the treatment by Hurusawa (1954) continued to reflect the general ideas of Mueller, despite considerable changes.

The classification of Webster (1975) is a descendant of the system of Jean Mueller (1866) and is based on the later work on the biogeography of major angiosperm taxa of Bentham (1878), in which the 300 genera of Euphorbiaceae were grouped into 52 tribes in five subfamilies, i.e. Phyllanthoideae, Oldfieldioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae, Euphorbioideae, with several of the tribes divided into subtribes.

Webster (1987) proposed over 20 segregate families of Euphorbiaceae based on the reflection of the diversity of the family. Hurusawa (1954) was the first modern author to propose a major dismantling of the family, with his recognition of Antidemataceae, Euphorbiaceae (sensu stricto), Porantheraceae, and Ricinocarpaceae. This system, based on inflation of the subfamilies of Pax and K. Hoffmann (1931), has met with little acceptance.

Airy Shaw (1965, 1966) recognized seven segregate families: Androstachydaceae, Bischofiaceae, Hymenocardiaceae, Peraceae, Picrodendraceae, Stilaginaceae, and Uapacaceae. Among modern authors, one of the most extreme splitters is Meeuse (1990), who recognizes nine segregrate families, plus the Pandaceae. Radcliffe-Smith (1988) partially followed Airy Shaw in recognizing the Hymenocardiaceae and Pandaceae, but treat Antidesma, Bischofia, and Uapaca as anomalous genera of Euphorbiaceae. Of all this aggregate taxa, only the family Pandaceae is recognized as distinct by Cronquist (1981) and Takhtajan (1980).

Webster's (1994) revised synopsis of the taxa of Euphorbiaceae recognized, and provided keys to 5 subfamilies, 49 tribes and 317 genera. It represents an extension and, in places, a considerable revision of the synoptic classification in which the five subfamilies were first recognized (Webster, 1975). In additions descriptions of the taxa at the subfamilial, tribal and subtribal levels were given. Within the tribes and

subtribes, keys are provided to the genera, and these are enumerated with the citation of important synonyms.

The Euphorbiaceae are important constituents of the tropical moist forests of Thailand. In many areas they are abundant, in terms of both species and individuals, in the understorey and canopy of the forest, and as emergents. The family has one of the highest levels of diversity and abundance in Thailand, with about 400 species. The family is of considerable economic importance and there has been much taxonomic confusion. To solve such problems, it is absolutely necessary to study the whole family. Teamwork between experts from various institutes both in Thailand and oversea collaborated to help work on the account of Euphorbiaceae in Thailand. The only revision of the family in Thailand that existed up to now is that of Airy Shaw (1972). He used the major revision of the family of Craib in Kew Bulletin (1911), who enumerated all the materials of the family collected by Kerr, adding descriptions of a number of new or supposed new species, and included the few records known to him from earlier collectors and previous writers.

At the time, Airy Shaw's account numbered 81 genera, of which 3 genera were marginally related families appended to the enumeration, i.e. *Antidesma* (Stilaginaceae), *Galearia* and *Microdesmis* (Pandaceae), and *Hymenocardia* (Hymenocardiaceae). An other three genera were doubtfully related or unrelated families excluded from the enumeration, i.e. *Buxus* (Buxaceae), *Daphniphyllum* (Daphniphyllaceae) and *Bischofia* (Bischofiaceae). He provided keys, both generic and specific, which were based on macroscopic characters, with the cited literature references, the accepted names, synonyms, geographical distribution, and the distribution in Thailand. In this treatment of the family Euphorbiaceae, we aimed at improving Airy Shaw's treatment (1972). The classification refers to Webster (1994), who recognizes five subfamilies based upon such characters as number of ovules per locule, basic chromosome number, pollen grain type, and latex characters and includes Pandaceae and Hymenocardiaceae.

***The Characters***

Habit and Growth Form: All habit types can be found in Euphorbiaceae ranging from trees to shrubs, herbs and climbers. All manner of tree shapes occur in Euphorbiaceae. Young *Endospermum* are pagoda trees, and a few *Baccaurea* have Terminalian branching; *Elateriospermum* has a monopodial crown. Species in secondary forest tend to have spreading bushy crowns (e.g. *Macaranga*, *Mallotus*), and in open places bushes with straggling branches are common (e.g. *Breynia*, *Glochidion*, *Phyllanthus*). *Euphorbia antiquorum* is a cactus-like plant with green, fleshy stems and tiny leaves which soon fall. Some *Macaranga* spp. have hollow ant-inhabited twigs.

Leaves: The leaves are simple or compound, palmately or pinnately nerved, and occasionally lobed. The leaf stalk is commonly kneed, often long, and often bears glands. *Macaranga gigantea* has one of the largest simple leaf blades of any tree in the country, and other *Macaranga* are strongly peltate. A group of related genera, typified by *Glochidion* and *Phyllanthus*, has one of the most specialised conditions of any tree in the world: the leaves are arranged alternately and closely along short leafy twigs, the whole spray resembling a pinnate leaf and only recognized for what it is when clusters of flowers develop in the leaf axils.

Inflorescences: The flowers are mainly small, some are without petals, unisexual, and often have a disc. The different sexes may be on the same tree (monoecious) or different trees (dioecious); sometimes they are borne on the same inflorescence, in which case the males are generally on the upper part. The flowers may be in axillary clusters or in axillary or terminal spikes, racemes or panicles. The are usually musty-scented, and are throught to be pollinated by insects, not by wind.

Fruit and seeds: The fruit in most Euphorbiaceae is typical 3-lobed, dehiscent capsule to baccate fruits, drupaceous but dehiscent, and drupaceous and indehiscent.

Typically the fruit is a capsular schizocarp, some splitting into 3 bivalved parts, leaving a central columella (e.g. *Cleistanthus*). Some woody fruits split open explosively, often with a sharp cracking sound (e.g. *Hevea*, *Mallotus*) and the seeds are forcibly expelled. Otherwise, dispersal is probably by small mammals or birds, attracted by the fleshy seed jacket (e.g. some *Baccaurea*, *Macaranga*) or fruit wall (e.g. other *Baccaurea*, *Bridelia*). Flowers and fruit are borne on the trunk in some *Baccaurea* and *Sauropus*.

The seeds show variation in size, shape and seed-coat ornamentation. There are typically two seeds per locule, but the number is often reduced to one. In the biovulate taxa with drupaceous fruits, only one or two seeds per fruit may develop (e.g. *Antidesma*, *Aporusa*, *Baccaurea* and *Drypetes*). Seed size varies greatly, from less than 1 mm in herbaceous species of *Phyllanthus* to over 4 cm in *Hevea* and *Omphalea*. A seed character that appears particularly important is the presence or absence of endosperm. It is copious in most genera, but scanty or absent in some genera such as *Actephila*. In exalbuminous seeds, the cotyledons are often distinctly folded.

Distribution: The family is found throughout the world, with the great majority of species in tropical and subtropical regions.

Ecology: Euphorbiaceae is the commonest family amongst trees in evergreen forest. Thus, Euphorbiaceae contribute to the lower part of the rain forest canopy, few species reach the top and none is truly emergent. Some species are small trees, or shrubs; there are also a few climbers or scramblers.

Euphorbiaceae are uncommon in primary Lower Montane forest, though in openings, they become as locally abundant as in the lowlands. Only a few species are common in peat swamps (e.g., *Blumeodendron tokbrai*, *Macaranga pruinosa*, *M. puncticulata*). Euphorbiaceae are very strongly represented in secondary and disturbed forest, mainly by *Endospermum*, most *Macaranga*, a few *Mallotus* and *Sapium*. Many species are entirely or mostly found on limestone hills (See Appendix 3). Many species are rare, known only from one or a few collections. Several genera have one species e.g. *Aleurites, Chaetocarpus, Flueggea, Sumbaviopsis, Trewia, Wetria* etc.

Uses: The secondary forest group of species have potential as a source material for wood-based products, such as paper, chipboard and fiber board, which remains almost entirely uninvestigated and totally undeveloped. Features that these species have evolved to grow successfully in secondary forest include such aspects as germination and seedling survival in the open with intense climber and herb competition, rapid growth in height and the ability to grow in dense pure stands without epidemic disease problems. These are valuable assets in a plantation species. A correlated feature, the possession of soft, pale timber is also a valuable asset. Moreover, the few investigations that have been made show that some Euphorbiaceae possess long wood fibres, which makes them an attractive possibility as a source of long fibre paper pulp. Pioneer work on pulping potential was done by Janssonius in the former Dutch East Indies, who found that the species he investigated of the subfamily Phyllanthoideae (except *Aporusa, Baccaurea, Drypetes*) all had high pulping potential. Unpublished work done at Kepong has shown that *Macaranga*, in the subfamily Euphorbioideae, also has long fibres.

The family includes important agricultural taxa, i.e., *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.Juss.) Müll.Arg., the Para rubber, *Manihot esculenta* Crantz., *Ricinus communis* L.

Traditional uses of Euphorbiaceae are: as fruit or nut-trees - *Baccaurea ramiflora* (mafai), *Phyllanthus acidus* (mayom), *P. emblica* (makham pom), *Aleurites moluccana* (Phothisat), *Elateriospermum tapos* (Pra); as vegetables - *Claoxylon longifolium*, *Sauropus androgynus, Pterococcus corniculatus*; and as medicines *Croton* spp., *Suregada multifida*. Colourful garden ornamentals are *Acalypha* spp., *Codiaeum* spp. (the garden 'Crotons'), *Euphorbia pulcherrima* (Poinsettia) and *Jatropha* spp.

## Methods

This revision is based on the examination of more than 5,000 herbarium specimens, from the following herbaria: BKF, BK, K, C, L, BM, E, TD, AAU. Botanical surveys were conducted which resulted in comprehensive collections, including male and female flowering materials and fruits from several species. Collected specimens were treated chemically, fixed on to specimen paper and placed in the herbarium, systematically. Visits to European herbaria to examine type specimens were made.

## Results and Discussion

1. As a result of the examination of morphology, the Euphorbiaceae of Thailand comprises 83 genera and 425 species; among these, 19 species are introduced. The genera and number of species compared with Airy Shaw 1972 are shown in Appendix 1).
2. Ten new species were found: 3 in *Croton*-*Croton acutifolius* Esser, *C. decalvatus* Esser, *C. kongkandae* Esser; 2 in *Macaranga*-*Macaranga siamensis* S.J.Davis, *M. neodenticulata* Whitmore; 3 in *Mollotus*-*Mallotus hispidospinosus* Welzen & Chayamarit, *M. viridis* Welzen & Chayamarit, *M. kongkandae* Welzen & Phattarahirankanok; 2 in Sauropus-*Sauropus poomae* Welzen & Chayamarit, *S. temii* Welzen & Chayamarit. All these species are newly described and submitted to international botanical journals. Some have already been published: *Mallotus kongkandae* in Blumea 46: 67. 2001; *Macaranga* and *Croton* sp. nov. in Thai Forest Bulletin (Botany) no. 29. Some are in press, such as *Mallotus* and *Sauropus* sp. nov. in Kew Bulletin. Nine species await further study as there are inadequate specimens for description of new taxa, i.e., one in *Antidesma*, *Dimorphocalyx, Euphorbia, Phyllanthus*; two in *Cleistanthus* and *Croton*; and three in *Drypetes.*
3. Thirteen species are recorded for the first time in Thailand (new records): *Acalypha brachystachya* Hornem., *A. mairei* (Lévl.) Schneid., *A. pleiogyne* Airy Shaw, *Baliospermum corymbiferum* Hook.f., *Cleistanthus hirsutipetalus* Gage; *Croton thorellii* Gagnep., *Euphorbia parkeri* Binojkumar & N.P.Balakr., *E. royleana* Boisser; *Macaranga diepenhorstii* (Miq.) Müll.Arg., *M. heynei* I.M.Johnston, *M. hullettii* King ex Hook.f., *Mallotus leucodermis* Hook.f., *M. penangensis* Müll.Arg.

4. Forty-nine species are found only in Thailand (endemic species): *Acalypha pleiogyne* Airy Shaw-Northern, Northeastern and Southeastern; *Actiphila collinsae* Hunter-Prachuap Khiri Khan; *Antidesma bunius* (L.) Spreng. var. *pubescens* Petra K. Hoffm.-Mae Li, Lamphun, *A. japonicum* Siebold & Zucc. var. *robustius* Airy Shaw- Khao Yai National Park; *Baliospermum siamense* Craib- Northern; *Breynia glauca* Craib- Doi Suthep; *Claoxylon oliganthum* Airy Shaw- Eastern and Peninsular, *C. putii* Airy Shaw-Pang Tong, Chiang Mai; *Cleistanthus denudatus* Airy Shaw-Northern, Central, Southeastern and Peninsular, *C. hirsutipetalus* Gage-Peninsular; *Croton acutifolius* Esser-Northern, *C. columnaris* Airy Shaw-Northern and Southwestern, *C. decalvatus* Esser-Northeastern, Eastern and Southeastern, *C. kongkandae* Esser-Northern and Southeastern, *C. longissimus* Airy Shaw-Northern, *C. stellatopilosus* Ohba-Central and Southeastern; *Delachampia elongata* Craib-Tak; *Drypetes dasycarpa* (Airy Shaw) Phuph. & Chayamarit-Chiang Mai, Nan and Loei; *Euphorbia saxicola* Roxb.-Doi Chiang Dao; *Glochidion santisukii* Airy Shaw-Khao Luang, Nakhon Si Thammarat; *Leptopus diplospermus* (Airy Shaw) G.L.Webster-Pak Tawan, Prachuap Khiri Khan; *Mallotus calocarpus* Airy Shaw-Khao Sabap, Chanthaburi, *M. garrettii* Airy Shaw-Doi Pha Ngua, Nan, *M. hispidospinosus* Welzen & Chayamarit-Kanchanaburi, *M. hymenophyllus* Airy Shaw-Surat Thani and Krabi, *M. kongkandae* Welzen & Phattarahirankanok-Mae Wong, Kamphaeng Phet, *M. pallidus* (Airy Shaw) Airy Shaw-Som Roi Yot, Prachuap Khiri Khan; *Phyllanthus brunelii* J. Roux-Northern, Central and Southeastern, *P. kerrii* Airy Shaw-Northern and Northeastern, *P. mirabilis* Müll.Arg.-Northern, Northeastern, Eastern and Central, *P. orientalis* (Craib) Airy Shaw-Chiang Mai, *P. polyphyllus* Willd.-Eastern, *P. winitii* Airy Shaw-Northern and Northeastern; *Ptychopyxis plagiocarpa* Airy Shaw-Wang Ka, Kanchanaburi; *Sauropus amabilis* Airy Shaw-Hua Wai, Nakhon Sawan, *S. amoebiflorus* Airy Shaw-Ratchaburi, *S. asteranthos* Airy Shaw-Don Tan, Nakhon Phanom, *S. garrettii* Craib-Doi Ang Ka, Chiang Mai, *S. granulosus* Airy Shaw-Wanon, Sakon Nakhon, *S. kerrii* Airy Shaw-Chiat, Ubon Ratchathani, *S. orbicularis* Craib-Mae Taeng, Doi Inthanon, Chiang Mai, *S. poomae* Welzen & Chayamarit-Doi Tung, Chiang Rai, *S. pulchellus* Airy Shaw-Ta Chang, Nakhon Ratchasima, *S. similis* Craib-Doi Chiang Dao, Chiang Mai, *S. suberosus* Airy Shaw-Khao Thong Lang, Trang; *Spathiostemon moniliformis* Airy Shaw-Ban Krut, Surat Thani; *Trigonostemon albiflorus* Airy Shaw-Northern, *T. kerrii* Craib-Northern, *T. pachyphyllus* Airy Shaw-Widespread.

5. Changes of plant status are as follows:

Three new combinations have been made, *Balakata baccata* (Roxb.) Esser (*Sapium baccatum* Roxb.), *Colobocarpos nanus* (Gagnep.) Esser & Welzen (*Croton nanus* Gagnep.), and *Shirakiopsis indica* (Willd.) Esser (*Sapium indicum* Willd.).

One species is raised from infraspecific status, *Drypetes dasycarpa* (Airy Shaw) Phup. & Chayamarit (*Drypetes indica* (Mull. Arg.) Pax & K. Hoffman. var. *dasycarpa* Airy Shaw. (See further details in Thai Forest Bulletin (Botany) no. 28. 2000.)

Three reductions have been made of Antidesma as follows:

*Antidesma montanum* Blume var. *microphyllum* (Hemsl.) Petra Hoffm. (*A. microphyllum* Hemsl.), *A. montanum* Blume var. *salicinum* (Ridl.) Petra Hoffm. (*A. salicinum* Ridl.), *A. montanum* (Tul.) Petra Hoffm. (*A. oblongifolium* Blume var. *wallichii* Tul.)

*Croton colobocarpos* Airy Shaw is transferred to *Colobocarpos*, a new genus for Southeast Asia (*Colobocarpos nanus* Esser). A name new to Thailand is *Croton stellatopilosus* Ohba which was misidentified as *C. sublyratus* Kurz, an Indian species. The common *Croton* species found all over the east is identified new as *Croton decalvatus* Esser. *C. oblongifolius* Roxb. is now *C. roxburghii* N.P.Balakr., as the former is illegitimated. *Croton santisukii* Airy Shaw is a distinct species, and awaits discussion. The novelties in *Croton* (Euphorbiaceae) from South-East Asia are discussed by H.-J. Esser & Kongkanda Chayamarit in Novon, 2001 (in press).

The name *Euphorbia pilulifera* L. is rejected by H.-J. Esser & Steve Cafferty, *E. coccinea* Roth as well as *E. tortilis* Rottler cannot be found in Thailand. See also H.-J. Esser & Kongkanda Chayamarit: Notes on *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in Thailand. Harvard Papers Bot. (in press).

Twenty-eight new synonyms are proposed as follows:

1. *Antidesma andamanica* Hook.f.=*A. bunius* (L.) Spreng. var. *bunius*
2. *A. plagiorrhynchum* Airy Shaw=*A. forbesii* Pax & K.Hoffm.
3. *A. acuminatissimum* Quisumbing & Merr.=*A. japonicum* Siebold & Zucc. var. *japonicum*
4. *A. kerrii* Craib=*A. montanum* Blume var. *montanum*
5. *A. stenophyllum* Merr.=*A. pendulum* Hook.f.
6. *A. velutinosum* Blume var. *lancifolium* Hook.f.=*A. velutinosum* Blume
7. *A. spaniothrix* Airy Shaw=*A. velutinum* Tul.
8. *Aporosa lophodonta* Airy Shaw=*A. globifera* Hook.f.

9. *Baliospermum montanum* (Willd.) Müll.Arg.=*B. solanifolium* (Burm.) Suresch
10. *Croton calococcus* Kurz=*C. lachnocarpus* Benth.
11. *C. bonianus* Gagnep.=*C. lachnocarpus* Benth.
12. *C. murex* Croizat=*C. lachnocarpus* Benth.
13. *C. trachycaulis* Airy Shaw= *C. lachnocarpus* Benth.
14. *C. argyratus* Blume var. *microcarpus* Gagnep.=*C. sepalinus* Airy Shaw
15. *C. birmanicus* Müll.Arg.=*C. tiglium* L.
16. *C. himalaicus* D.G.Long=*C. tiglium* L.
17. *C. oblongifolius* Roxb.=*C. roxburghii* N.P.Balakr.
18. *C. siamensis* Craib=*C. robustus* Kurz
19. *Chamaesyce coudercii* (Gagnep.) Sojk=*Euphorbia bifida* Hook.Arn.
20. *C. harmandii* (Gagnep.) Sojk=*Euphorbia bifida* Hook. & Arn.
21. *Euphorbia barnhartii* Croizat=*E. lacei* Craib
22. *E. coudercii* (Gagnep.) forma *glaberrima* Gagnep.=*E. bifida* Hook.Arn.
23. *E. kerrii* Craib=*E. sessiliflora* Roxb.
24. *Macaranga kampotensis* Gagnep.=*M. andamanica* Kurz
25. *M. trigonostemonoides* Croizat=*M. andamanica* Kurz
26. *M. denticulata* (Blume) Müll.Arg. var. *pustulata* (King ex Hook.f.) Chakrabarty & Gangopadhyay=*M. denticulata* (Blume) Müll.Arg.
27. *M. adenophylla* Pax & K.Hoffm.=*M. motleyana* (Müll.Arg.) ssp. *griffithiana* (Müll.Arg.) Whitmore
28. *M. glaberrima* var. *kostermansii* Airy Shaw=*M. lowii* King & Hook.f.

6. Uses of Euphorbiaceae are reported in Appendix 2. Plants are identififed as medicinal, edible fruit and vegetable, wood product, and ornamental.
7. Keys to all genera and species with full descriptions, distributions and uses, and with illustrations and colour pictures will be presented in the Flora of Thailand, volume 8, parts 1 & 2, in the year 2002.
8. The resolution of species problems requires obtaining much more living material of such plants. These species have sometimes been confused with others. Sometimes pressed specimens bear a striking resemblance. It was found that staminate and pistillate flowers of most of the taxa were needed and are taxonomically significant to solve the status of the species. Thus, new collections from surveys in all parts of Thailand were tended to support the taxonomic resolution. These collections agreed well with the presumption of the authors. The study also proved that the long-standing misapplication of some names needed to be changed for nomenclatural reasons. A list of new synonyms is shown in 5.

## Acknowledgements

This research was supported by the TRF/BIOTEC Special Program for Biodiversity Research and Training grant BRT 139004.

## References

Airy Shaw, H.K. 1965. Diagnoses of new Families, new names etc., for the seventh edition of Willis's "Dictionary." Kew Bull. 18: 249-272.

Airy Shaw, H.K. 1966. A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns, ed. 7. Univ.Press, Cambridge.

Airy Shaw, H.K. 1972. The Euphorbiaceae of Siam. Kew Bull. 26: 191-490.

Baillon, H. 1858. Etude G?n?rle du groupe des Euphorbiac?es. Victor Masson, Paris.

Bentham, G. 1878. Notes on Euphorbiaceae. *J. Linn. Soc. Bot*. 17: 185-267.

Bentham, G. 1880. Euphorbiaceae. *In* G. Bentham & J.D. Hooker (eds.), Genera Plantarum. 3: 239-340. L. Reeve, London.

Craib, W.G. 1911. Contributions to the Flora of Siam. Kew Bull.: 456-457.

Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia Univ. Press, New York.

Hurusawa, I. 1954. Eine nochmalige Durchsicht des herkmmlischen Systems der Euphorbiaceen im weiteren Sinne. J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sect. 3, Bot. 6: 209-342.

Jussieu, A. 1824. De Euphorbiacearum generibus medicisque earumdem tentamen. Didot, Paris.

Mabberley, D.J. 1997. The Plant-Book. Cambridge University Press, U.K.

Meeuse, A.D.J. 1990. The Euphorbiaceae auct. plur.: An Unnatural Taxon.Eburon, Delft.

MÜller-Argoviensis, J. 1866. Euphorbiaceae. De Candolle Prodromus Systimatis Naturalis Regni Vegetabilis 15(2): 1-1286.

Pax, F. 1890. Euphorbiaceae. *In* A. Engler & K. Prantl, Die Naturlichen Pflanzenfamilien, ed. 1, 3(5): 1-119.

Pax, F. and K. Hoffmann. 1931. Euphorbiaceae. *In* A. Engler & K. Prantl (eds.), Die Nat?rlichen Pflanzenfamilien ed. 2, 19c: 11-233.

Radcliffe-Smith, A. 1988. Notes on Madagascan Euphorbiaceae I. On the identity of Paragelonium and the affinities of Benoistia and Claoxylopsis (Euphorbiaceae). Kew Bull. 43: 625-647.

Takhtajan, A.L. 1980. Outline of the Classification of Flowering Plants (Magnoliophyta). *Bot. Rev.* 46:225-359.

Webster, G.L. 1975. Conspectus of a new classification of the Euphorbiaceae. Taxon 24: 593-601.

Webster, G.L. 1987. The saga of the spurges: A review of classification and relationships in the Euphorbiales. *Bot. J. Linn. Soc*. 94: 3-46.

Webster, G.L. 1994. Systematics of the Euphorbiaceae. Annals of the Missouri Botanical Garden 81(1-2): 1-401.

Welzen, Van P.C. 1998. Analytical Key to the Genera of Thai Euphorbiaceae. Thai Forest Bull. (Botany) 26: 1-17.

Appendix 1. Number of genera and species of Euphorbiaceae in Thailand, present revision (2001) compared to Airy Shaw (1972), showed new species, new record, endemic species, introduce species, nomenclature and uses.

| Genus | species/var. | | New species | New record | Endemic | Name changes | | | Uses | Introduced |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Airy Shaw(1972) | Chayamarit et al. (2001) | | | | comb. nov. | stat. nov. | syn. nov. | | |
| 1. *Acalypha* | 10 | 10 | | 3 | 1 | | | | 3 | 2 |
| 2. *Actephila* | 3/3 | 3/3 | | | 1 | | | | | |
| 3. *Agrostistachys* | 2 | 3 | | | | | | | 1 | |
| 4. *Alchornea* | 3/1 | 3 | | | | | | | 1 | |
| 5. *Aleurites* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 6. *Antidesma* | 21 | 18/8 | (1) | | 2 | 3 | | 7 | 8 | |
| 7. *Aporosa* | 16 | 20/4 | | | | | | 1 | 3 | |
| 8. *Austrobuxus* | - | 1 | | | | | | | | |
| 9. *Baccaurea* | 8 | 12 | | | | | | | 12 | |
| 10. *Balakata* | - | 1 | | | | 1 | | | 1 | |
| 11. *Baliospermum* | 4 | 5 | | 1 | 1 | | | 1 | 1 | |
| 12. *Blachia* | 2 | 2 | | | | | | | | |
| 13. *Blumeodendron* | 1 | 2 | | | | | | | | |
| 14. *Botryophora* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 15. *Breynia* | 7 | 7 | | | 1 | | | | 2 | |
| 16. *Bridelia* | 11 | 10 | | | | | | | 8 | |
| 17. *Chaetocarpus* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 18. *Chondrostylis* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 19. *Chorisanthes* | | | | | | | | | | |
| 20. *Chrozophora* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 21. *Cladogynos* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 22. *Claoxylon* | 4 | 4 | | | 2 | | | | | |
| 23. *Cleidiocarpon* | - | 1 | | | | | | | | |
| 24. *Cleidion* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 25. *Cleistanthus* | 11 | 14 | (2) | 1 | 2 | | | | 3 | |
| 26. *Cnesmone* | 3 | 3 | | | | | | | | |
| 27. *Codiaeum* | - | 1 | | | | | | | 1 | 1 |
| 28. *Colobocarpos* | - | 1 | | | | 1 | | | | |
| 29. *Croton* | 29 | 30 | 3(2) | 1 | 6 | | | 9 | 9 | |
| 30. *Dalechampia* | 2 | 3 | | | 1 | | 1 | | | |
| 31. *Dimorphocalyx* | 2 | 2 | (1) | | | | | | | |
| 32. *Drypetes* | 14 | 17 | (3) | | 1 | | 1 | | 3 | |
| 33. *Elateriospermum* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 34. *Endospermum* | 3 | 3 | | | | | | | | |
| 35. *Epiprinus* | 2 | 2 | | | | | | | | |
| 36. *Erismanthus* | 2 | 2 | | | | | | | 1 | |
| 37. *Euphorbia* | 26 | 27 | (1) | 2 | 1 | | | 5 | 5 | 7 |
| 38. *Excoecaria* | 5 | 5/2 | | | | | | | | |
| 39. *Falconeria* | - | 1 | | | | | | | | |
| 40. *Flueggea* | - | 1 | | | | | | | | |
| 41. *Galearia* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 42. *Glochidion* | 23 | 24/1 | | | 1 | | | | 2 | |
| 43. *Hevea* | - | 1 | | | | | | | 1 | 1 |
| 44. *Homalanthus* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 45. *Homonoia* | 2 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 46. *Hura* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | 1 |

Appendix 1. (cont.)

| Genus | species/var. | | New species | New record | Endemic | Name changes | | | Uses | Introduced |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Airy Shaw(1972) | Chayamarit et al. (2001) | | | | comb. nov. | stat. nov. | syn. nov. | | |
| 47. *Hymenocardia* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 48. *Jatropha* | 5 | 5 | | | | | | | 5 | 3 |
| 49. *Koilodepas* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 50. *Leptopus* | 2 | 2 | | | 1 | | | | | |
| 51. *Macaranga* | 16 | 22/2 | 2 | 3 | | | | 5 | | |
| 52. *Mallotus* | 18 | 35 | 3 | 2 | 6 | | | | 4 | |
| 53. *Manihot* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | 1 |
| 54. *Margaritaria* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 55. *Megistostigma* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 56. *Melanolepis* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 57. *Mercurialis* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 58. *Microdesmis* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 59. *Microstachys* | - | 1 | | | | | | | 1 | |
| 60. *Omphalea* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 61. *Ostodes* | 2 | 1/2 | | | | | | | | |
| 62. *Pachystylidium* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 63. *Pantadenia* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 64. *Paracroton* | - | 1 | | | | | | | 1 | |
| 65. *Pedilanthus* | - | 1 | | | | | | | 1 | |
| 66. *Phyllanthus* | 31 | 34 | (1) | | 6 | | | | 4 | 1 |
| 67. *Pimelodendron* | - | 1 | | | | | | | | |
| 68. *Pterococcus* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 69. *Ptychopyxis* | 2 | 2 | | | 1 | | | | | |
| 70. *Richeriella* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 71. *Ricinus* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | 1 |
| 72. *Sampantaea* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 73. *Sauropus* | 21 | 24/3 | 2 | | 11 | | | | 1 | |
| 74. *Shirakiopsis* | - | 1 | | | | 1 | | | 1 | |
| 75. *Spathiostemon* | 1 | 1 | | | 1 | | | | | |
| 76. *Strophioblachia* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 77. *Sumbaviopsis* | 1 | 1 | | | | | | | | |
| 78. *Suregada* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 79. *Thyrsanthera* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 80. *Trewia* | 1 | 1 | | | | | | | 1 | |
| 81. *Triadica* | - | 1 | | | | | | | 1 | |
| 82. *Trigonostemon* | 1 | 13 | | | 3 | | | | 2 | |
| 83. *Vernicia* | 1 | 2 | | | | | | | | 1 |
| 84. *Wetria* | 1 | 1 | | | | | | | | |

Note: ( ) =await for further study
syn.nov. =new synonym
comb.nov.=new combination
stat.nov. =new status

Appendix 2. Economic Uses of Euphorbiaceae

| SPECIES | USES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Medicinal | Edible | Wood | Ornamental | Others |
| 1. *Acalypha hispida* Burm.f. | | | | ✓ | |
| 2. *A. siamensis Oliv.* ex Gage | ✓ | | | ✓ | |
| 3. *A. wilkesiana* Müll.Arg. | | | | ✓ | |
| 4. *Agrostistachys borneensis* Becc. | | | ✓ | | |
| 5. *Alchornea rugosa* (Lour.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 6. *Aleurites moluccana* (L.) Willd. | ✓ | | ✓ | ✓ | |
| 7. *Antidesma acidum* Retz. | | ✓ | | | |
| 8. *A. ghaesembilla* Gaertn. | | ✓ | | | |
| 9. *A. japonicum* Siebold & Zucc. var. *japonicum* | | | ✓ | | |
| 10. *A. montanum* Blume var. *montanum* | | ✓ | | | |
| 11. *A. orthogyne* (Hook.f.) Airy Shaw | ✓ | | | | |
| 12. *A. sootepense* Craib | | ✓ | | | |
| 13. *A. tomentosum* Blume var. *tomentosum* | | ✓ | | | |
| 14. *A. velutinosum Blume* var. *lancifolium* Hook.f. | | ✓ | | | |
| 15. *Aporosa arborea* Blume | | | ✓ | | |
| 16. *A. aurea* Hook.f. | | | ✓ | | |
| 17. *A. octandra* (Buch.-Ham. ex D. Don) Vickery var. *yunnanensis* (Pax & K. Hoffm.) Schot | ✓ | | ✓ | | |
| 18. *A. villosa* (Wall. ex Lindl.) Baillon | ✓ | | | | |
| 19. *Baccaurea bracteata* Müll.Arg. | | ✓ | | | |
| 20. *B. brevipes* Hook.f. | | ✓ | | | |
| 21. *B. lanceolata* (Miq.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 22. *B. lanceolata* (Miq.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 23. *B. macrocarpa* (Miq.) Müll.Arg. | | ✓ | | | |
| 24. *B. macrophylla* (Müll.Arg.) Müll.Arg. | | ✓ | | | |
| 25. *B. minor* Hook.f. | | | ✓ | | |
| 26. *B. motleyana* (Müll.Arg.) Müll.Arg. | ✓ | ✓ | | | |
| 27. *B. parviflora* (Müll.Arg.) | | ✓ | | | |
| 28. *B. racemosa* (Reinw. ex Blume) Müll.Arg. | | ✓ | | | |
| 29. *B. ramiflora* Lour. | ✓ | ✓ | | | |
| 30. *B. sumatrana* (Miq.) Müll.Arg. | | | ✓ | | |
| 31. *Balakata baccata* (Roxb.) Esser | ✓ | | ✓ | | |
| 32. *Baliospermum solanifolium* (Burm.) Suresh | ✓ | | | | |
| 33. *Breynia fruticosa* (L.) Müll.Arg. | | ✓ | | | |
| 34. *B. glauca* Craib | ✓ | | | | |
| 35. *Breynia vitis-idaea* (Burm.f.) C.E.C. Fischer | ✓ | ✓ | | | |
| 36. *Bridelia affinis* Craib | ✓ | | | | |
| 37. *B. curtisii* Hook.f. | ✓ | | | | |
| 38. *B. glauca* Blume | | | ✓ | | |
| 39. *B. insulana* Hance | ✓ | | ✓ | | |
| 40. *B. ovata* L. | ✓ | | | | |

Appendix 2. (cont.)

| SPECIES | USES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Medicinal | Edible | Wood | Ornamental | Others |
| 41. *Bridelia retusa* (L.) A. Juss. | ✓ | ✓ | ✓ | | |
| 42. *B. stipularis* (L.) Blume | ✓ | | | | |
| 43. *B. tomentosa* Blume | ✓ | ✓ | ✓ | | |
| 44. *Chaetocarpus castanocarpus* (Roxb.) Thwaites | ✓ | | ✓ | | |
| 45. *Chrozophora rottleri* (Geiselar) A. Juss ex Spreng. | | | | | ✓ |
| 46. *Cleidion spiciflorum* (Burm.f.) Merr. | ✓ | | | | |
| 47. *Cliestanthus hirsutulus* Hook.f. | | | | | ✓ |
| 48. *C. myrianthus* (Hassk.) Kurz | ✓ | | ✓ | | |
| 49. *C. polyphyllus* F.N. William | | | | | ✓ |
| 50. *Codiaeum variegatum* Blume | ✓ | | | ✓ | |
| 51. *Croton acutifolius* Esser | ✓ | | | | |
| 52. *C. argyratus* Blume | ✓ | | | | |
| 53. *C. cascarilloides* Raeusch. | ✓ | | | | |
| 54. *C. caudatus* Geiseler | ✓ | | | | |
| 55. *C. crassifolius* Geiseler | ✓ | | | | |
| 56. *C. delpyi* Gagnep. | | | ✓ | | |
| 57. *C. longissimus* Airy Shaw | ✓ | | | | |
| 58. *C. poilanei* Gagnep. | ✓ | | | | |
| 59. *C. roxburghii* N.P. Balakr. | ✓ | | | | |
| 60. *C. stellatopilosus* Ohba | ✓ | | | | |
| 61. *C. tiglium* L. | ✓ | | | | |
| 62. *Drypetes longifolia* (Blume) Pax & K. Hoffm. | | | ✓ | | |
| 63. *D. pendula* Ridl. | | | ✓ | | |
| 64. *D. roxburghii* (Wall.) Hurusawa | ✓ | | | | |
| 65. *Elateriospermum tapos* Blume | | ✓ | ✓ | | |
| 66. *Erismanthus sinensis* Oliv | | | ✓ | | |
| 67. *Euphorbia antiquorum* L. | ✓ | | | | |
| 68. *E. atoto* G. Forst | ✓ | | | | |
| 69. *E. hirta* L. | | | | | |
| 70. *E. neriifolia* L. | ✓ | | | | |
| 71. *E. pulcherrima* Willd. | | | | ✓ | |
| 72. *E. sessiliflora* Roxb. | ✓ | | | | |
| 73. *E. thymifolia* L. | ✓ | | | | |
| 74. *E. tirucalli* L. | ✓ | | | | |
| 75. *Excoecaria agallocha* L. | ✓ | | | | |
| 76. *E. cochinchinensis* Lour. var. *cochinchinensis* | ✓ | | | | |
| 77. *E. oppositifolia* Griff. | ✓ | | | | |
| 78. *Glochidion acuminatum* Müll.Arg. var. *siamense* Airy Shaw | ✓ | ✓ | | | |
| 79. *G. hongkongense* Müll.Arg. | ✓ | ✓ | | | |
| 80. *G. obscurum* (Roxb. ex Willd.) Blume | ✓ | | | | |

Appendix 2 (cont.)

| SPECIES | USES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Medicinal | Edible | Wood | Ornamental | Others |
| 81. *Hevea brasiliensis* (Humb., Bonpl. & Kunth) Müll.Arg. | | | ✓ | | ✓ |
| 82. *Homalanthus populneus* (Geiseler) Pax | ✓ | | ✓ | | ✓ |
| 83. *Homonoia riparia* Lour | ✓ | | | | |
| 84. *Hura crepitans* L. | ✓ | | | ✓ | |
| 85. *Jatropha curcas* L. | ✓ | | | | |
| 86. *J. gossypiifolia* L. | ✓ | | | | |
| 87. *J. integerrima* Jacq. | | | | ✓ | |
| 88. *J. multifida* L. | | | | ✓ | |
| 89. *J. podagrica* Hook. | | | | ✓ | |
| 90. *Macaranga denticulata* (Blume) Müll.Arg. | | ✓ | | | |
| 91. *M. gigantea* (Reichb.f. & Zoll.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 92. *M. motleyana* (Müll.Arg.) Müll.Arg. ssp. *griffithiana* (Müll.Arg.) Whitmore | ✓ | | | | |
| 93. *M. tanarius* (L.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 94. *M. triloba* (Reinw. ex Blume) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 95. *Mallotus barbatus* Müll.Arg. | ✓ | | | | ✓ |
| 96. *M. floribundus* (Blume) Müll.Arg. | ✓ | | | ✓ | |
| 97. *M. macrostachyus* (Miq.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 98. *M. miquelianus* (Scheff.) Boerl. | | | ✓ | | ✓ |
| 99. *M. paniculatus* (Lam.) Müll.Arg. | ✓ | | | | ✓ |
| 100. *M. philippensis* (Lam.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 101. *Manihot esculenta* Crantz | ✓ | ✓ | | | ✓ |
| 102. *Melanolepis multiglandulosa* (Reinw. ex Blume) Rchb.f. & Zoll. | ✓ | | ✓ | | |
| 103. *Microstachys chamaelea* (L.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 104. *Paracroton pendulus* (Hassk.) Miq. | | | ✓ | | |
| 105. *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. | ✓ | | | ✓ | |
| 106. *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels | | ✓ | | | |
| 107. *P. amarus* Schumach. & Thonn. | ✓ | | | | |
| 108. *P. elegans* Wall. ex Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 109. *P. emblica* L. | ✓ | ✓ | | | |
| 110. *P. mirabilis* Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 111. *P. orientalis* (Craib) Airy Shaw | ✓ | | | | |
| 112. *P. oxyphyllus* Miq. | ✓ | | | | |
| 113. *P. polyphyllus* Willd. | | | ✓ | | |
| 114. *P. pulcher* Wall. ex Müll.Arg. | ✓ | | | ✓ | |
| 115. *P. reticulatus* Poir. | ✓ | | | | |
| 116. *P. urinaria* L. | ✓ | | | | |
| 117. *P. virgatus* G. Forst. | ✓ | | | | |
| 118. *Ricinus communis* L. | ✓ | | | | ✓ |
| 119. *Sauropus androgynus* (L.) Merr. | ✓ | ✓ | | | |

Appendix 2. (cont.)

| SPECIES | USES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Medicinal | Edible | Wood | Ornamental | Others |
| 120. *Sauropus quadrangularis* (Willd.) Müll.Arg. | ✓ | | | | |
| 121. *Shirakiopsis indica* (Willd.) Esser | ✓ | | | | ✓ |
| 122. *Strophioblachia fimbricalyx* Boerl. | | | | | ✓ |
| 123. *Suregada multiflorum* (A.Juss.) Baillon | ✓ | | | | |
| 124. *Thyrsanthera suborbicularis* Pierre ex Gagnep. | ✓ | | | | |
| 125. *Trewia nudiflora* L. | ✓ | | ✓ | | ✓ |
| 126. *Triadica cochinchinensis* Lour. | | | ✓ | | |
| 127. *Trigonostemon longifolius* Baillon | ✓ | | | | |
| 128. *T. reidioides* (Kurz) Craib | ✓ | | | | |
| 129. *Vernicia fordii* (Hemsl.) Airy Shaw | ✓ | | | | ✓ |
| 130. *V. montana* Lour. | ✓ | | | | ✓ |

Appendix 3. The species of Euphorbiaceae are entirely or mostly found in limestone hills.

1. *Acalypha brachystachya* Hornem.
2. *A. mairei* (Lévl.) Schneid.
3. *A. pleiogyne* Airy Shaw
4. *A. siamensis* Oliv. ex Gage
5. *Actephila collinsae* Hunter
6. *A. excelsa* (Dalzell) Müll.Arg. var. excelsa
7. *A. excelsa* (Dalzell) Müll.Arg. var. acuminata Airy Shaw
8. *A. ovalis* (Ridl.) Gage
9. *Antidesma japonicum* Siebold & Zucc. var. *japonicum*
10. *A. neurocarpum* Miq. var. neurocarpum
11. *A. sootepense* Craib
12. *A. tomentosum* Blume var. *tomentosum*
13. *A. velutinosum* Blume
14. *A. velutinum* Tul.
15. *Aporosa aurea* Hook.f.
16. *A. microstachya* (Tul.) Müll.Arg.
17. *A. octandra* (Buch.-Ham. ex D.Don) Vickery var. *octandra*
18. *A. octandra* (Buch.-Ham. ex D.Don) Vickery var. *malesiana*
19. *A. octandra* (Buch.-Ham. ex D.Don) Vickery var. *yunnanensis*
20. *A. villosa* (Wall. ex Lindl.) Baill.
21. *Baccaurea motleyana* (Müll.Arg.) Müll.Arg.
22. *Blachia andamanica* (Kurz) Hook.F.
23. *B. siamensis* Gagnep.
24. *Breynia retusa* (Dennst.) Alston
25. *Bridelia affinis* Craib
26. *B. curtisii* Hook.f.
27. *B. glauca* Blume
28. *B. insulana* Hance
29. *B. ovata* Decne.
30. *B. stipularis* (L.) Blume
31. *B. tomentosa* Blume
32. *Cladogynos orientalis* Zipp. ex Span.
33. *Claoxylon indicum* (Rienw. & Blume) Hassk.
34. *C. longifolium* (Blume) Endl. ex Hassk.
35. *Cleidion spiciflorum* (Burm.f.) Merr.
36. *Cleistanthus gracilis* Hook.f.
37. *C. hirsutulus* Hook.f.
38. *C. myrianthus* (Hassk.) Kurz
39. *C. praetermissus* Gage
40. *Cnesmone laevis* (Ridl.) Airy Shaw
41. *C. laotica* (Gagnep.) Croizat
42. *Croton acutifolius* Esser
43. *C. cascarilloides* Raeusch.
44. *C. crassifolius* Geiseler
45. *C. lachnocarpus* Benth.
46. *C. roxburghii* N.P.Balakr.
47. *C. wallichii* Müll.Arg.
48. *Drypetes hainanensis* Merr.
49. *D. harmandii* Pierre ex Gagnep.
50. *Drypetes hoaensis* Gagnep.
51. *D. perreticulata* Gagnep.
52. *D. roxburghii* (Wall.) Hurusawa
53. *Erismanthus obliquus* Wall.
54. *Excoecaria laotica* (Gagnep.) Esser
55. E. oppositifolia Griff.
56. *Falconeria insigne* Royle
57. *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) Voigt
58. *Glochidion coccineum* (Buch.-Ham.) Müll.Arg.
59. *G. eriocarpum* Cham
60. *G. kerrii* Craib
61. *G. khasicum* (Müller.Arg.) Hook.f.
62. *G. rubrum* Blume
63. *G. wallichianum* Müll.Arg.
64. *Leptopus australis* (Zoll. & Moritzi) Pojark.
65. *L. diplospermus* (Airy Shaw) G.L.Webster
66. *Macaranga siamensis* S.J.Davies
67. *Mallotus barbatus* Müll.Arg.
68. *M. brevipetiolatus* Gage
69. *M. cuneatus* Ridl.
70. *M. dispar* (Blume) Müll.Arg.
71. *M. floribundus* (Blume) Müll.Arg.
72. *M. hymenophyllus* Airy Shaw
73. *M. macrostachyus* (Miq.) Müll.Arg.
74. *M. miquelianus* (Scheff.) Boerl.
75. *M. pallidus* (Airy Shaw) Airy Shaw
76. *M. peltatus* (Geiseler) Müll.Arg.
77. *M. penangensis* Müll.Arg.
78. *M. philippensis* (Lam.) Müll.Arg.
79. *M. repandus* (Willd.) Müll.Arg.
80. *M. resinosus* (Blanco) Merr.
81. *M. spodocarpus* Airy Shaw
82. *M. subpeltatus* (Blume) Müll.Arg.
83. *Manihot esculenta* Crantz
84. *Phyllanthus clarkei* Hook.f.
85. *P. mirabilis* Müll.Arg.
86. *P. orientalis* (Craib) Airy Shaw
87. *P. sikkhimensis* Müll.Arg.
88. *Richeriella gracilis* (Merr.) Pax & K. Hoffm.
89. *Sauropus amoebiflorus* Airy Shaw
90. *S. androgynus* (L.) Merr.
91. *S. bicolor* Craib
92. *S. brevipes* Müll.Arg.
93. *S. garrettii* Craib
94. *S. macranthus* Hassk.
95. *S. orbicularis* Craib
96. *S. poomae* Welzen & Chayamarit
97. *S. quadrangularis* (Willd.) Müll.Arg. var. *puberulus* Kurz
98. *Sumbaviopsis albicans* (Blume) J.J. Sm.
99. *Wetria insignis* (Steud.) Airy Shaw

# Palynological Study of Euphorbiaceae in Thailand

**Kosum Pyramarn[1], Chumpol Khunwasi[1], Kanda Kasetsinsombat[2] and Ratapong Puangtaptim[1]**
[1]Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330
[2]Department of Pharmarcology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700

**Abstract:** Pollen materials obtained from fresh and herbarium specimens of euphorbiaceaous species found in Thailand were acetolysed. Measurements and morphological observations were made using a Nikon AFX 35, with a x10 eyepieces and x100 immersion objective. All measurements were based on at least 10 pollen grains. The external ultrastrastructure of pollen grains was observed by scanning electron microscope. The SEM micrographs were taken using a JEOL JSM 5410 LV. A conspicuous morphological diversity of euphorbiaceous pollen is evident from the various types of apertural systems and ornamentation. Pollen morphology may possibly be used to identify different taxonomic ranks in this family, even to species level.

**Key words:** Euphorbiaceae, pollen

## Introduction

The Euphorbiaceae is most prolific in species and can be regarded as a large dicotyledonous family. Its distribution covers a vast area of the world. There are altogether about 300 genera of 8000 species. In Thailand, there are about 83 genera of more than 400 species of these plants. Many of them are of economic value. But there is a need to obtain essential data on pollen morphology that should be studied alongside with that of plant taxonomy. Palynological data of this family will provide a fundamental instrument to give substantial support to plant taxonomic data as well as to relevant applied botany. In addition to research in the field of palynology, some data can be used in a pollen atlas to be made as a handbook and reference text. These palynological data are also good for research in other fields and as reference data, such as for melissopalynology (honey bee culture), pollen allergy diagnosis, plant ecology, as well as deposition investigation by pollen analysis.

Palynological works on Euphorbiaceae are limited, especially in south-east Asian countries. The available data on Asian Euphorbiaceae pollen is rather scanty and is found scattered in the works of Khan (1968), Nair (1971) and Huang (1972). In addition to the works of Wodehouse (1935) and Erdtman (1952), which represents the pioneer pollen morphological descriptions of some species, it was Punt (1962) who made the first synthesis of pollen morphological data for taxonomic discussion of Euphorbiaceae in his work “Pollen morphology of the Euphorbiaceae with special reference to taxonomy”.

## Methods

Pollen materials, i.e. whole inflorescences, excised flowers, stamens and/or anthers, were collected, depending on the species and the circumstances, from fresh materials or herbarium specimens provided by the Royal Forest Herbarium, Bangkok, and the Kasin Suvatabhandhu Herbarium, Chulalongkorn University, Bangkok. Each sample was treated by the acetolysis method (Erdtman, 1952) for both light and scanning electron microscopic studies. For SEM, all materials were studied and photographed on a JOEL JSM 5410 LV scanning electron microscope. Permanent light microscopic slides were prepared for most samples, except for those few in which materials were available only for SEM work.

## Pollen Morphology of Thai Euphorbiaceae

***Acalypha*** L. (Fig. 2D)

*Acalypha* pollens are small (P = 11-15 μ, E = 11-15 μ). Grain shape is suboblate to spheroidal (P/E = 0.46-1.00). The equatorial outline is circular to elliptic. The polar view is circular-triangular to quadrangular (in 4 aperturate grains). *Acalypha* pollens are 3 (4) 5-zonocolporate. The ectoapertures are very short, sometimes hardly visible under the light microscope. The endoapertures are lalongate or lolongate, rounded or elliptic, pori. The exine is tectate. The ornamentation is psilate (LM) or rugulate with sparse, minute, granulate sexine elements.

***Actephila*** Blume

Pollen of *Actephila excelsa* is medium-sized (P = 24-28 μ, E = 21-24 μ). Grain shape is subprolate to prolate (P/E = 1.13-1.33). The equatorial outline is elliptic-circular with slightly convex or flattened poles. The polar view is quadrangular-circular with convex sides. The pollen grain is 4-zono-colporate, semi-tectate. The ectoapertures are relatively long. The endoapertures are lalongate, short elliptic pori. The

ornamentation is microreticulate. The reticulum is, more or less, angular. The muri is broaden at base and tapering to the top forming the sharp edge. The lumina is rounded or elliptic.

***Agrostistachys*** Dalz.

Pollen of *Agrostistachys* is small (P = 17-23 μ, E = 15-22 μ). Grain shape is sub-prolate (P/E = 1.00-1.33). The equatorial outline and polar view is circular. The pollen grain is 3-zonocolporate. The ectoapertures are widely open, relatively long, slightly shorter than the polar axis, with broad margo. The endoapertures are circular pori. The ornamentation is coarsely reticulate. The lumina are irregular in shape and size.

***Alchornea*** Sw.

Pollen of *Alchornea* is small (P = 16-20 μ, E = 15-19 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to subprolate (P/E = 0.95-1.33). The equatorial outline is elliptic. The polar view is triangular-circular. The pollen grain of *Alchornea* is 3-zonocolporate. The ectoapertures are long, opened. The endoapertures are endocingulum. The ornamentation is granulate, perforate, or scabrate-rugulate.

***Aleurites*** Forster &G. Porster

*Aleurites* pollen grains are small (P = 17-19 μ, E = 16-17 μ). Grain shape is prolate-spheroidal (P/E = 1.00-1.12). The equatorial outline is elliptic-circular or rhomboid. The polar view is triangular-circular. The pollen grains of *Aleurites* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, rather long. The endoapertures are endocingulum. The ornamentation is roughly rugulate.

***Antidesma*** L.

*Antidesma* pollen grains are small to very small (P = 17-24 μ, E = 8.9-13 μ). Grain shape is prolate to perprolate (P/E = 1.50-2.20). The equatorial outline is obtuse, or acute, elongate oblong. The polar view is triangular with convex sides or subcircular. The pollen grain is 3-zonocolporate semi-tectate. The ectoapertures are narrow, very long, as long as the polar axis. The endoapertures are endocingulum. The ornamentation is generally fine striato-reticulate or reticulate, often seen in psilate under the light microscope.

***Aporusa*** Blume

*Aporusa* pollen grains are small. Grain shape is prolate-spheroidal to oblate-spheroidal. The equatorial outline is obtuse, or acute-elliptic. The polar view is 3-lobed or triangular-circular, with slightly straight side. Pollen grains of *Aporusa* are 3-zonocolporate. The ecto-apertures are narrow, relatively long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are lalongate, oblong-elliptic with diffused lateral ends, or narrow endocingulum. The ornamentation is usually micro-reticulate. The muri are occasionally at base and tapered upward forming sharp ridges.

***Baccaurea*** Lour.

*Baccaurea* pollen grains are small (P = 13-19 μ, E = 9-14 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to prolate (P/E = 1.14-1.50). The equatorial outline is circular to elliptic. The polar view is circular to triangular with convex sides. Pollen grains of *Baccaurea* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, long, slightly shorter than polar axis. The endoapertures are lalongate, elliptic colpi, with distinct costae. The ornamentation is microreticulate or foveolate.

***Balakata***

*Balakata* pollen grains are medium-sized (P = 20-27 μ, E = 14-20 μ). Grain shape is oblate-spheroidal to prolate-spheroidal (P/E = 1.22-1.75). The equatorial outline is circular. The polar view is 3-lobed. Pollen grains of *Balakata* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow with thin, psilate margo. The endoapertures are lalongate, elliptic pori. The ornamentation is fine rugulate-reticulate.

***Baliospermum***

*Baliospermum* pollen grains are medium-sized (diameter of grains = 22-39 μ). Grain shape is spheroidal (P/E = 1). Pollen grain of *Baliospermum* are intectate, inaperturate. The ornamentation is croton-pattern. The structure elements that formed croton configuration are circular to triangular-circular in outline, somewhat irregular in shape and size, with smooth surface, or deeply lobed. There are small, irregular sexine elements within circular area of croton configuration.

***Bishofia*** Blume

Pollen grains of *Bishofia* are small (P = 17-20 μ, E = 13-17 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to prolate (P/E = 1.06-1.35). The equatorial outline is elliptic. The polar view is 3-lobed or circular. *Bishofia* pollen grain are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, very long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are lalongate pori or narrow endocingulum. The ornamentation is microreticulate. The muri are irregular in shape, wavy and uneven thickening, usually thickening, usually thicker at base.

***Blachia***

Pollen grains of *Blachia* are medium-sized to large (diameter of grains = 23-32 μ). Grain shape is spheroidal (P/E = 1). Pollen grains of *Blachia* are semitectate, inaperturate. The ornamentation is croton-pattern. The structure elements that formed croton configuration are circular to elliptic in outline with smooth surface and stand on the narrow tectum. There are small, irregular, granular sexine elements within the circular area of croton configuration.

***Blumeodendron*** (Muell. Arg.) Kurz.

*Blumeodendron* pollen is small (P = 15-16 μ, E = 15-18 μ). Grain shape is oblate-spheroidal (P/E = 0.97-1.07). The equatorial outline is circular. The polar view is circular. *Blumeodendron* pollen is 3-zonocolporate. The ectoapertures are rather narrow, very short. The endoapertures are circular pori. Vestibulum can be discerned. The ornamentation is foveolate with small granules. The perforation is irregular in shape and size.

***Bridelia*** Wild. (Fig. 2C)

Pollen grains of *Bridelia* are small. Grain shape is prolate-spheroidal to perprolate (P/E = 1.00-1.47). The equatorial outline is circular to circular-oblong. The polar view is circular. *Bridelia* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are rather opened to broadly opened, relatively long. The endoapertures are lalongate pori or lalongate elliptic with diffused lateral ends. The ornamentation is more or less striato-reticulate.

***Breynia***

Pollen grains of *Breynia* are small (P = 17-22 μ, E = 19-25 μ). Grain shape is spheroidal to suboblate (P/E = 0.81-0.95). The equatorial outline is circular to slight elliptic. The polar view is circular to slightly multilobate with straight to convex sides. *Breynia* pollen grains are 7-10-zonodiploporate. The ectoapertures are narrow, relatively long, slightly shorter than polar axis, with distinct margo. The endoapertures are lalongate, circular or slightly short elliptic. The ornamentation is coarse reticulate. Lumina are irregular in shape and size, with rounded angles.

***Chaetocarpus*** Thwaites.

Pollen grains of *Chaetocarpus* is small (P = 21-25 μ, E = 15-21 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to prolate (P/E = 1.04-1.40). The equatorial outline is elliptic. The polar view is triangular-circular or slightly 3-lobed. *Chaetocarpus* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are rather narrow, relatively long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are elliptic pori. The ornamentation is psilate (LM) or finely rugulate-fossulate (SEM).

***Cladogynos***

Pollen grains of *Cladogynos* are small (P = 30-35 μ, E = 28-34 μ). Grain shape is prolate-spheroidal (P/E = 0.88-1.16). The equatorial outline is broad elliptic. The polar view is circular. *Cladogynos* pollen grain is 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow and rather opened, long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are endocingulum. The ornamentation is microreticulate. Muri is as broad as lumina.

***Claoxylon*** A. Juss

*Claoxylon* pollen is small (ca. P = 18 μ, E = 16 μ). Grain shape is prolate spheroidal to oblate-spheroidal. The equatorial outline is broad elliptic; the polar view is quadrangular-circular with slightly convex or straight side. *Claoxylon* pollen grain is always 4-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, long to rather short colpi, slightly widened at the equator. The endoapertures are lalongate to lolongate short colpi or pori. The grain is tectate-perforate. The ornamentation is rugulate with scabrate or granulate sexine elements.

***Cleidion***

Pollen grains of *Cleidion* are small (P = 17-21 μ, E = 16-19 μ). Grain shape is spheroidal to prolate-spheroidal. The equatorial outline is broad-elliptic. The polar view is circular. *Cleidion* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, rather short to relatively long. The endoapertures are broad elliptic or slightly rounded with diffused lateral ends. The ornamentation is psilate to faint verucate.

***Cleistanthus*** Hook. F. ex Planchon

Pollens of *Cleistanthus hirsutus* are medium-sized (P = 24-30 μ, E = 21-27 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to subprolate (P/E = 1.04-1.28). The equatorial outline is circular-elliptic. The polar view is circular to triangular with convex sides. *Cleistanthus* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are rather narrow, but broadly opened at equator, and suddenly tapering towards the poles. The endoapertures are lalongate, broad elliptic or circular, pori. The ornamentation is reticulate (LM) or

striato-reticulate (SEM). Muri long, run parallel to colpi, sometimes forked or anastomosed. Reticulation occurs along the grooves; irregular in shape and size.

***Cnesmone*** Blume

Pollen grains of *Cnesmone javanica* are medium (diameter of grain ca. 35 μ). Grain shape is spheroidal. The apertural system is inaperturate. The tectum is tectate-perfortate. The ornamentation is granulate-perforate. However, the tectum is irregularly raised up resulting in a wrinkle-undulating texture of the grain.

***Croton***

*Croton* pollen grains are medium-sized to large (diameter of grains = 26-60 μ). Grain shape is spheroidal (P/E = 1). Pollen grains of *Croton* are intectate, inaperturate. The structure elements that formed croton configuration are circular to triangular-circular in outline, somewhat irregular in shape and size, with smooth surface, or deeply lobed. There are small, irregular, granular sexine elements within the circular area of croton configuration.

***Dalechampia*** L. (Fig. 2B)

Pollen grains of *Dalechampia* are large (P = 55-95 μ, E = 38-76 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to prolate (P/E = 1.10-1.50). The equatorial outline is elliptic-oblong. The polar view is triangular-circular and slightly 3-lobed. *Dalechampia* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, short to rather short. The endoapertures are broad endocingulum. The ornamentation is coarsely reticulate. The muri is much narrower than the lumina. Lumina are irregular in shape and size, but usually with rounded angles. The columellae are very long, distinct.

***Drypetes***

Pollen grains of *Drypetes* are medium-sized (P = 23-30 μ, E = 16-27 μ). Grain shape is spheroidal to subprolate (P = 0.92-1.33). The equatorial outline is elliptic. The polar view is circular or 3-lobed. *Drypetes* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, slit-like or widely opened, very long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are lalongate, elliptic colpi or endocingulum. The ornamentation is coarse reticulate or fine rugulate-fossulate.

***Elateriospermum*** Blume

Pollen grains of *Elateriospermum* are medium-sized to large (diameter of grains = 38-50 μ). Grain shape is spheroidal (P/E = 1). *Elateriospermum* pollen grains are inaperturate, tectate. The structure elements that formed croton configuration are elongated clavate with psilate surface.

***Endospermum*** Benth.

*Endospermum* pollen grain is small (P = 25-30 μ, E = 18-27 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to subprolate (P/E = 1.04-1.44). The equatorial outline is obtusely elliptic-oblong. The polar view is circular or 3-lobed. *Endospermum* pollen grain is 3-zonocolporate. The colpi are rather short, or long. The ornamentation is croton-pattern. The sixine elements on the tectum that formed croton configuration are irregular in shape and size.

***Epiprinus*** Griffith.

Pollen grains of *Epiprinus* are medium-sized (P = 18-20 μ, E = 16-19 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to subprolate (P/E = 1.00-1.19). The equatorial outline is circular or obtusely elliptic. The polar view is triangular-circular. *Epiprinus* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are slightly opened, relatively long, with distinct thin psilate margo. The endoapertures are endocingulum. The ornamentation is microreticulate. The muri are broadened at base and gradually tapered to the apex, forming a sharp ridged tectum.

***Erismanthus***

*Erismanthus* pollen grains are small (P = 21-25 μ, E = 15-18 μ). Grain shape is subprolate to prolate (P/E = 1.31-1.44). The equatorial outline is circular. The polar view is obtuse triangular with convex sides. Pollen grains of *Erismanthus* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are very short. The endoapertures are lalongate, elliptic pori. The ornamentation is granulate.

***Euphorbia*** L.

Pollen grains of *Euphorbia* are small to large (P = 18-51 μ, E = 12-40 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to prolate (P/E = 0.97-1.66). The equatorial outline is circular to elliptic-oblong. The polar view is triangular, triangular-circular or slightly 3-lobed. *Euphorbia* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are long to very long. The endoapertures are lalongate, circular or elliptic pori. The ornamentation is perforate, microreticulate, reticulate.

***Exoecaria*** L.

Pollen grains of *Exoecaria* are medium-sized (P = 20-43 μ, E = 18-29 μ). Grain shape is oblate-spheroidal to prolate-spheroidal (P/E = 0.95-1.64). The equatorial outline is circular. The polar view is 3-

lobed or circular. *Exoecaria* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are slightly opened, relatively long, with distinct, broad, psilate margo. The endoapertures are lalongate colpi with parallel side. The ornamentation is tectate-perforate to microreticulate.

***Falconeria***

Pollen grains of *Falconeria* are medium-sized (P = 26-35 μ, E = 21-26 μ). Grain shape is spheroidal to prolate (P/E = 1.00-1.47). The equatorial outline is circular to broad elliptic. The polar view is circular or subtriangular with convex sides. *Falconeria* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are slightly opened, especially at the equator, slightly shorter than the polar axis, with broad psilate margo. The endoapertures are lalongate elliptic colpi with acute ends. The ornamentation is microreticulate to perforate.

***Flueggea*** Willd.

Pollen grains of *Fluggea* are small (P = 13-16 μ, E = 9-12 μ). Grain shape is prolate (P/E = 1.3-1.6). The equatorial outline is elliptic. The polar view is 3-lobed or circular. *Flueggea* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, relatively long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are lalongate, elliptic pori. The ornamentation is microreticulate. Muri are narrower than the lumina.

***Glochidion*** Forster & Forster f.

Pollen grains of *Glochidion* are small to medium-sized (P = 17-22 μ, E = 16-20 μ). Grain shape is spheroidal to perprolate (P/E = 1.00-1.16). The equatorial outline is circular to elliptic. The polar view is circular. Pollen grains of *Glochidion* are 3-5-zonocolporate. The ectoapertures are rather narrow, relatively long. The endoapertures are circular pori. The ornamentation is coarse reticulate with uniform round lumina, muri distinctly much narrower than lumina.

***Hevea*** Aublet.

Pollen grains of *Hevea* are medium-sized (P = 25-28 μ, E = 28-33 μ). Grain shape is spheroidal to oblate-spheroidal (P/E = 0.82-1). The equatorial outline is elliptic. The polar view is circular. Pollen grains of *Hevea* are 3-zonocolporate. Colpi are narrow, very long. The ornamentation is croton-pattern.

***Homalanthus*** A.Juss. (Fig. 1B)

*Homalanthus* pollen grains are medium-sized (P = 20-26 μ, E = 15-24 μ). Grain shape is oblate-spheroidal to prolate-spheroidal (P/E = 0.95-1.09). The equatorial outline is circular-elliptic or narrow-elliptic. The polar view is 3-lobed or triangular-circular. Pollen grains of *Homalanthus* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow or opened, very long, slightly shorter than the polar axis, with broad, psilate margo. The endoapertures are lalongate, elliptic pori. The ornamentation is perforate.

***Homonoia*** ?

*Homonoia* pollen grains are medium-sized (P = 20-24 μ, E = 17-24 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to subprolate (P/E = 1.00-1.35). The equatorial outline is elliptic. The polar view is 3-lobed. Pollen grains of *Homonoia* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are opened, very long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are lalongate, elliptic pori. The ornamentation is granulate.

***Hura*** L.

Pollen grains of *Hura crepitans* are large (P = 50-64 μ, E = 45-52 μ). Grain shape is prolate-speroidal to subprolate (P/E = 1.04-1.20). The equatorial outline is circular to slightly elliptic. The polar view is triangular-circular. *Hura* pollen is 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow and relatively long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures is lalongate broad, elliptic colpi, with costae endocolpi. The exine is tectate. The ornamentation is psilate (LM), or microperforate with sparsely minute granules (SEM).

***Hymenocardia*** Wallich ex. Lindley

Pollen grains of *Hymenocardia* are small (P = 13-18 μ, E = 14-20 μ). Grain shape is oblate-speroidal (P/E = 0.81-0.94). The equatorial outline is circular to subquadrangular. The polar view is circular or 3-lobed. *Hymenocardia* pollen grains are 3-zonocolporate. The apocolpium is very broad. The apertures are circular or elliptic pori. The ornamentation is rugulate-fossulate. (see *Trigonostemon*)

***Leptopus* Decne.** (Fig. 1C)

Pollen grains of *Leptopus* are small to medium-sized (P = 19-22 μ, E = 21-26 μ). Grain shape is suboblate to prolate (P/E = 0.77-1.86). The equatorial outline is circular-elliptic. The polar view is circular to 3-lobed. *Leptopus* pollen grains are 3-zonocolporate or 11-12 diploporate (in *Leptopus australis*). The ectoapertures are narrow, very long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are rounded, or elliptic pori. In *Leptopus australis*, the positions of the two pori of each ectoaperture vary from ectocolpus to ectocolpus. The exine is semitectate. The ornamentation is microreticulate with rounded or elongated lumina.

***Macaranga*** Thouars.

Pollen grains of *Macaranga* are small (P = 16-19 μ, E = 15-18 μ). Grain shape is suboblate to spheroidal (P/E = 0.91-1.00). The equatorial outline is circular. The polar view is circular. *Macaranga* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, relatively short. The endoapertures are lalongate, elliptic colpi. Polar field is broad. The ornamentation is perforate with scattered scabrate sexine elements.

***Mallotus*** Lour.

*Mallotus* pollen grains are small to medium-sized (P = 16-23 μ, E = 15-18 μ). Grain shape is oblate-spheroidal to prolate-spheroidal (P/E = 0.88-1.53). The equatorial outline is elongate elliptic to elliptic-oblong. The polar view is circular to 3-lobed. Pollen grains of *Mallotus* are 3-zono-colporate. The ectoapertures are narrow or slit-like, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are endocingulum. The ornamentation is perforate with scattered scabrate, or granulate-sexine elements.

***Manihot*** Miller. (Fig. 1A)

*Manihot* pollen grains are very large (diameter of grain = 80-163 μ). Grain shape is spheroidal. The equatorial outline and the polar view are circular. *Manihot* pollen is inaperturate, intectate grain. The ornamentation is croton–pattern. The structure elements that formed croton configuration are clavate with triangular in polar outline.

***Margaritaria*** L.f.

Pollen grains of *Margaritaria* are small (P = 15-18 μ, E = 12-16 μ). Grain shape is subprolate (P/E = 1.12-1.38). The equatorial outline is obtusely elliptic. The polar view is 3-lobed. *Margaeitaria* pollen grains are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, long to very long, slightly shorter than the polar axis; with distinct margo. The endoapertures are circular pori. The exine is semitectate. The ornamentation is coarsely reticulate. The muri is distinctly narrower than the lumina. Lumina are irregular in shape and size but usually with rounded angles.

***Megistostigma*** Hook.f.

*Megistostigma* pollen grains are medium-sized (P = 29-23 μ, E = 35-38 μ). Grain shape is suboblate to oblate-spheroidal (P/E = 0.76-0.94). The equatorial outline is elliptic. The polar view is 3-lobed or triangular-circular. Pollen grains of *Megistostigma* are 3-zono-colporate. The ectoapertures are very short. The ornamentation is scabrate.

***Melanolepis*** Reichb.f.ex.Zoll.

Pollen grains of *Melanolepis* are small (P = 21-30 μ, E = 23-28 μ). Grain shape is oblate-spheroidal to prolate-spheroidal (P/E = 0.92-1.16). The equatorial outline is elliptic to circular elliptic. The polar view is triangular with slightly convex or straight sides. *Melanolepis* pollen is 3-zonocol-porate. The ectoapertures are broad, widened at the equator and tapering towards the poles. The endoapertures are very large circular pori (diameter ca. 8 μ). The fastigium and annulus can be discerned. The exine is semi-tectate. The ornamentation is reticulate. Lumina are rounded or elongate and irregular in size. Muri are as broad as or narrower than lumina.

***Mercurialis*** L.

Pollen grains of *Mercurialis* are small (P = 15-19 μ, E = 14-17 μ). Grain shape is prolate-spheroidal (P/E = 1.00-1.21). The equatorial outline is circular to oval-elliptic. The polar view is circular or slightly 3-lobed. Pollen grains of *Mercurialis* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are rather short to long, distinct or indistinct. The endoapertures are rather large, lalongate pori. The ornamentation is recticulate. Lumina is irregular in shape and size, but usually with rounded angles. The muri is distinctly narrower than lumina, with spinules or granules on top.

***Microdermis*** Hook.f.ex Hook.

*Microdermis* pollen grains are small (P = 9-12 μ, E = 8-12 μ). Grain shape is oblate-spheroidal to prolate-spheroidal (P/E = 0.90-1.25). The equatorial outline is subcircular to elliptic. The polar view is circular. Pollen grains of *Microdermis* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, very long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are very small, circular pori. The ornamentation is microreticulate. Lumina are irregular in shape and size. Muri are thicker at base and tapering towards the top. The tops of muri in the optical section are pointed.

***Microstachys***

Pollen grains of *Microstachys* are small (P = 25-30 μ, E = 19-22 μ). Grain shape is subprolate to prolate (P/E = 1.25-1.50). The equatorial outline is elliptic. The polar view is circular. Pollen grains of *Microstachys* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, rather long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are very small, circular pori. The ornamentation is microreticulate. Lumina are circular or oval and irregular in size. Muri as broad as or broader than the width of lumina.

***Neoscortechinia*** Pax. (Fig. 2A)

Pollen grains of *Neoscortechinia* are small (P = 14-16 μ, E = 16-18 μ). Grain shape is prooblate (P/E = 0.82-0.88). The equatorial outline is elliptic to circular. The polar view is circular. Pollen grains of *Neoscortechinia* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are rather narrow, relatively short. The endoapertures are small, indistinct, circular pori or endocingulum. The ornamentation is microechinate; spines with spiral ridges.

***Ostodes*** Blume

Pollen grains of *Ostodes katharinae* are medium (diameter of grain ca. 37 μ). Grain shape is spheroidal. The tectum is semitectate. The apertural system is inaperturate. The ornamentation is croton-pattern. The croton-configurated elements are clavate with shallow grooves. The pollen grains are very much similar to *Paracroton*.

***Paracroton*** Miq. (= Fahrenheitia Reichb.f.&Zoll. Ex Muell.Arg.)

*Paracroton pendulus* pollen grains are rather small (diameter of grains ca. 30 μ). Grain shape is spheroidal. The grain is inaperturate and semitectate. The ornamentation is croton-pattern. The structure elements that format croton configuration are clavate with shallow longitudinal ridges.

***Pedilanthus*** Necker et Poit.

*Pedilanthus* pollen is medium or large-sized (P = 48-59 μ, E = 50-57 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to oblate-spheroidal (P/E = 0.88-1.15). The equatorial outline is circular or subcircular. The polar view is triangular with straight sides and obtuse angles. *Pedilanthus* pollen is 3-zonocolporate. The ectoapertures are long to very long, as long as the polar axis, widened at the equator, with distinct psilate margo. The endoapertures are lalongate, elliptic pori. The exine is tectate-perforate or semitectate. The ornamentation is microreticulate to perforate with rounded lumina or perforation.

***Phyllanthus*** L.

*Phyllanthus* pollen is medium or large-sized (P = 10-27 μ, E = 9-22 μ or diameter of grains = 15-27 μ in apolar grain). Grain shape is prolate-spheroidal to oblate-spheroidal (P/E = 0.24-2.00). The equatorial outline is circular or subcircular. The polar view is circular. *Phyllanthus* pollen is 3-(4-5)-zonocolporate, syncolporate, polyporate. The ectoapertures are rather short to very long, as long as, or slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are lalongate, circular pori. The exine is tectate-perforate or semitectate. The ornamentation is perforate, clypeate, microreticulate, reticulate, with various shape of lumina and muri.

***Pimelodendron*** Hassk.

Pollen grains of *Pimelodendron* are small (P = 12-17 μ, E = 12-16 μ). Grain shape is proate-spheroidal to subprolate (P/E = 0.86-1.21). The equatorial outline is circulate. The polar view is triangular-circular. *Pimelodendron* pollen grains are 3-zonocolporate, or 3-syncolporate in some grains. The ectoapertures are slightly opened, relatively long. The endoapertures are circular pori. The ornamentation is microreticulate, somewhat perforate, The muri are wavy.

***Richeriella*** Pax & K. Hoffm.

Pollen grains of *Richeriella gracilis* is small (P = 11-12 μ, E = 10-11 μ). Grain shape is prolate-spheroidal (P/E = 1.09-1.10). The equatorial outline circular. The polar view is circular or slightly 3-lobed. *Richeriella* pollen is 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow, relatively long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are very small, circular, pori (diameter ca. 1 μ). The exine is semitectate. The ornamentation is coarse reticulate with irregular lumina and slightly undulated muri.

***Ricinus*** L.

*Ricinus* pollen grains are small (P = 21-30 μ, E = 17-21 μ). Grain shape is subproblate to prolate (P/E = 1.17-1.75). The equatorial outline is elliptic. The polar view is circular. *Ricinus* pollen grain is 3-colporate. The ectoapertures are narrow, long, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are lalongate elliptic pori. The ornamentation is perforate with scabrate sexine elements.

***Sampantaea*** Airy Shaw

*Sampantaea* pollen grains are small to medium-sized (P = 17-20 μ, E = 18-19 μ). Grain shape is oblate-spheroidal to prolate-spheroidal (P/E = 0.94-1.11). The equatorial outline is elongate elliptic to elliptic-oblong. The polar view is circular. Pollen grains of *Sampantaea* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are narrow or slit-like, rather short. The endoapertures are endocingulum. The ornamentation is granulate.

***Sauropus*** Blume

*Sauropus* pollen is medium or large-sized (P = 16-25 μ, E = 14-25 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to oblate-spheroidal (P/E = 0.72-1.37). The equatorial outline is circular or elliptic. The polar

view is circular or lobed. *Sauropus* pollen is 4-16-zonodiploporate. The ectoapertures are long to very long, as long as, or slightly shorter than the polar axis, straight or slightly winding, with or without thin psilate margo. The endoapertures are lalongate, circular pori. The exine is tectate-perforate or semitectate. The ornamentation is microreticulate, rugulate-reticulate, with various shapes of lumina and muri.

***Shirakiopsis***

Pollen grains of *Shirakiopsis* are medium-sized (P = 25-33 μ, E = 18-22 μ). Grain shape is prolate (P/E = 1.25-1.66). The equatorial outline is elliptic. The polar view is circular to 3-lobed. *Shirakiopsis* pollen grains are 3-colporate. The ectoapertures are narrow, relatively long, with broad, distinct, psilate margo. The endoapertures are lalongate, elliptic colpi or endocingulum. The ornamentation is perforate to microreticulate.

***Spathiostemon*** Blume (Fig. 1D)

Pollen grains of *Spathiostemon* are small (P = 18-21 μ, E = 16-20 μ). Grain shape is prolate-spheroidal (P/E = 1.00-1.25). The equatorial outline is obtusely, oval-elliptic. The polar view is subcircular 3-lobed with straight, or slightly convex sides. *Spathiostemon* pollen grains are 3-zono-colporate. The ectoapertures are very narrow, relatively long. The endoapertures are endocingulum, or lalongate elliptic colpi. The ornamentation is striate. The muri are densely arranged with very narrow valley. Muri are split into rows of semi-square shape elements.

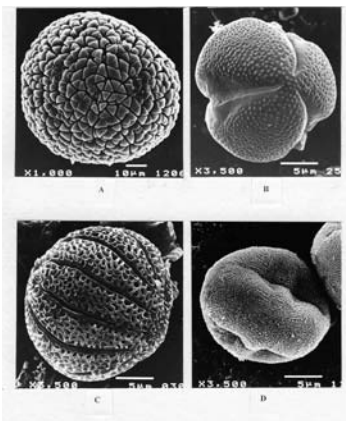


Figure 1. Inaperturate and croton-patterned pollen grain of *Manihot esculentus* (A). Tricolporate and perforate pollen grain of *Homalanthus populneus* (B). Polyaperturate and reticulate pollen grain of *Leptopus australis* (C). Tricolporate and striate pollen grain of *Spathiostemon moniliformis* (D).

***Strophioblachia*** Boerl.

*Strophioblachia* pollen is small or medium-sized (diameter of grain ca. = 33 μ). Grain shape is spheroidal. The pollen grain is inaperturate, semi-tectate. The ornamentation is croton-pattern. The structure elements are clavate with shallow ridges. The circular area of the croton configuration is beset with irregular small clavate or granulate sexine elements.

***Sumbaviopsis*** J.J.Sm.

Pollen grains of *Sumbaviopsis* are small to medium-sized (P = 22-26 μ, E = 19-24 μ). Grain shape is prolate-spheroidal (P/E = 1.00-1.26). The equatorial outline is elliptic. The polar view is circular. Pollen grains of *Sumbaviopsis* are 3-zonocolporate. The ectoapertures are rather narrow, slightly shorter than the polar axis, with psilate margo. The endoapertures are lalongate, circular pori. The ornamentation is reticulate. The lumina are rounded or elongate with, more or less, rounded angles. The muri are narrower than lumina.

***Suregada*** Roxb. ex Rottler

*Suregada* pollen grains are medium-sized (diameter of grain 25-38 μ). Grain shape is spheroidal. Pollen grains of *Suregada* are intectate, pantoporate. Pori are large, circular to slightly elliptic. The ornamentation is croton-pattern. The structure elements are clavate with smooth surface and undulate margins. The circular area of the croton configuration beset with irregular, small, granulate sexine elements.

***Thyrsanthera*** Pierre ex Gagnepain

Pollen grains of *Thyrsanthera* are medium-sized (P = 32-45 μ, E = 27-33 μ). Grain shape is prolate-spheroidal to prolate (P/E = 1.09-1.52). The equatorial outline is elliptic. The polar view is triangular with concave sides. *Thyrsanthera* pollen grains are 3-zonocol-porate. The ectoapertures are narrow, slightly shorter than the polar axis. The endoapertures are lalongate pori or elliptic. The ornamentation is recticulate with, more or less, rounded angle lumina.

***Trewia*** L.

*Trewia* pollen grains are small to medium-sized (P = 18-22 μ, E = 20-24 μ). Grain shape is oblate-spheroidal to prolate-

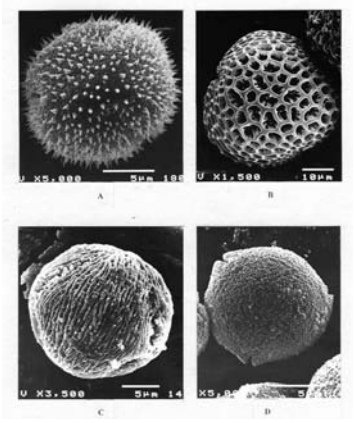


Figure 2. Inaperturate and echinate pollen grain of *Neoscortechinia sumratensio* (A). Tricolporate and coarse reticulate pollen grain of *Dalechampia falcata* (B). Tricolporate and striato-reticulate pollen grain of *Bridelia curtisii* (C). Tricolporate and rugulate-granulate pollen grain of *Acalypha kerrii* (D).

spheroidal (P/E = 0.75-1.10). The equatorial outline is elliptic to elliptic-oblong. The polar view is circular to subtriangular. Pollen grains of *Trewia* are 3-zono-colporate. The ectoapertures are narrow or slit-like, rather short. The endoapertures are lalongate colpi with parallel side. The ornamentation is granulate.

***Triadica***

Pollen grains of *Triadica* are medium-sized (P = 28-36 μ, E = 23-30 μ). Grain shape is subprolate (P/E = 1.12-1.36). The equatorial outline is elliptic. The polar view is circular. Pollen grains of *Triadica* are 3-colporate. The ectoapertures are rather narrow, very long, slightly shorter than the polar axis, with psilate margo. The endoapertures are lalongate, elliptic colpi or endocingulum. The ornamentation is microreticulate with, more or less, evenly distributed, uniform rounded or slightly elliptic lumina, muri as wide as lumina.

***Trigonostemon*** Blume

Pollen grains of *Trigonostemon* are medium-sized to large (diameter of grain = 32-45 μ). Grain shape is spheroidal (P/E = 1). Pollen grains of *Trigonostemon* are semitectate, inaperturate. The ornamentation is croton-pattern. The structure elements that formed croton configuration are circular to elliptic in outline with smooth surface and stand on the narrow tectum. There are small, irregular, granular sexine elements within the circular area of croton configuration.

***Vernicia*** Lour.

*Vernicia* pollen is medium-sized or large (diameter of grain 42-60 μ). Grain shape is spheroidal. The pollen grain is inaperturate, semi-tectate. The ornamentation is croton-pattern. The structure elements are clavate with triangular to subcircular outline in cross-section. The areas of the croton configuration are irregular and beset with irregular small clavate of granulate sexine elements.

## Pollenmorphological Trends in the Euphorbiaceae

Euphorbiaceae has been recognised as a distinct eurypalynous family by most authors (Erdtman, 1952; Punt, 1975). As one of the large and divers families, variation in pollen morphology and structure could be accepted. In the present study, 68 genera and more than 200 species, representing the subfamilies Cortonoideae, Euphorbiodeae, Phyllanthoideae, etc., have demonstrated the existence of almost all apertural types of dicotyledonous pollen. A diagramatic flow chart of the putative phylogenetic relationships of apertural types is shown in Fig. 3.

Following the hypothesis of evolutionary trends based on apertural developing of angiosperm pollen, the inaperturates pollen could naturally succeed the Magonoliacean type. All genera belong to this pollen type, including those in the subfamily Crotonoideae, have uniform pollen morphology and are significantly combined with croton-pattern of ornamentation. Nowicke (1994) gave a valuable comment that inaperturate pollen is a restricted condition in the dicotyledons and its predominance in the subfamily Crotonoideae and its rarity in the remaining of Euphorbiaceae could lend support to the monophyly of inaperturate tribes.

From this initial pollen type it seems that the main evolutionary lines have consecutively evolved into multiplication and complexity of aperturation. Thus, there exists the simple apertural type of 3-colpi / pori, the compound aperture of 3, 4, 5 or more up to 16 on each grain and the parasyncolporate type.

*Hevea brasiliensis* and *Endospermum* spp. are a few representative taxa of the 3-colpate type, and have been designated as members of tribes of subfamily Crotonoideae, pollen of which mostly appears inaperturate, sometimes pantoporate but more rarely 3-colpate or very rarely 3-colporate (Nowicke, 1994). The pollen type might be a transitional form taking place at the separation of two distinct, yet related, pollen lines, which are the 3-porate type and 3-colporate type. The represented taxa reflect the

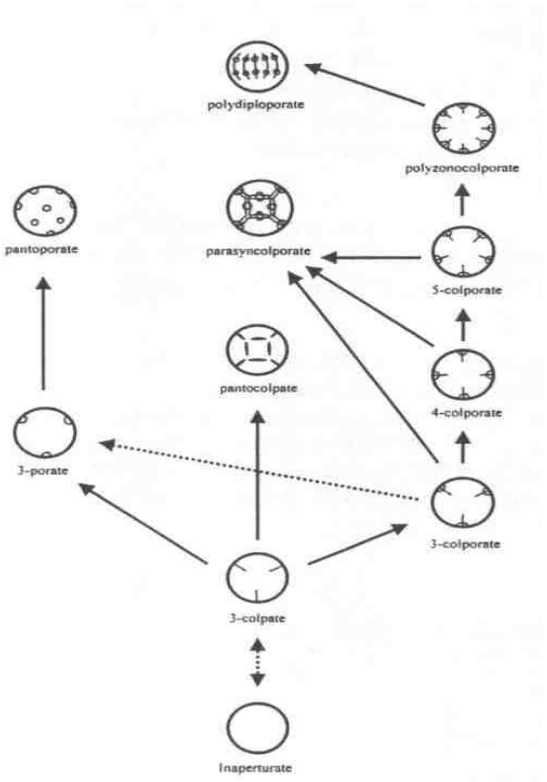



Figure 3. The scheme of apertural trends.

conformity to croton structure of inaperturate groups and the diversification towards 3-porate and 3-colporate type. Size reduction of three furrows of three pores could be explained by available examples as well as the hypothetical concept of few to many and simplicity to complexity and vice versa.

The 3-colporate type, a more progressive form of evolutionary line, is the largest group of all. Nevertheless, being a 3-colporate and reticulate grain indicates it is a general type of dicotyledon pollen. The majority of examined 3-colporate species appear in a reticulate ornamentation, sometimes rugulose or striato-reticulate but rarely foveolate or perforate beset with fine structural elements. This fundamental pattern and its derivatives indicate the possible phylogentic trends and close relations within Euphorbiaceous major taxa. The reticulate pattern and deviant sculpturing (rugulate, striato-reticulate, foveolate, and perforate) usually accompany all apertural types, except for the primitive inaperturate condition. However, species belonging to Crotonoideae inevitably show the typical croton-structure, even though their apertural systems are of other types, for example, the pantoparate grain of *Manihot* and *Suregada* and the 3-colpate grain of *Hevea* and *Endospermum*. Therefore, characterised by croton pattern, any pollen of Euphorbiaceae could be easily distinguished as crotonoid pollen.

From the 3-colporate type the pollen line could converge further to the end at the polydiploporate type. And in the opposite direction, it could diverge into the simple 3-porate type, spontaneously. *Hymenocardia punctata*, the only representative taxon of 3-porate pollen found in the present study, has large pores with a prominent annulus and finely rugulate-fossulate ornamentation.

Considering the closely related taxon that could phylogenetically bridge the two pollen types, the characteristic and very short ectoaperture of *Trewia nudiflora* L. should offer confirmation of this point.

## Conclusions

The Euphorbiaceae display a fairly wide range of pollen morphological features, particularly in grain ornamentation as well as in aperture types. While most euphorbiaceaous genera have their own stenopalynous characters, some genera have eurypalynous ones, such as *Phyllanthus*. On the basis of pollen morphology, there is good evidence for the identification of different taxonomic ranks in the Euphorbiaceae found in Thailand, even at species level.

The pollen morphological trends suggested here are based solely on the pollen grains of recent taxa studied in the present study. Thus they can be only be hypothetical. Major trends in the aperture system, which were found in this study are

1. colpate → colporate
2. long ectocolpi → short ectocolpi
3. increasing number of apertures
4. zonoaperturate → pantoporate


## Acknowledgements

This work was supported by the TRF/BIOTEC Special Program for Biodiversity Research and Training grant BRT 140003. We would like to thank Dr. Kongkanda Chayamarit and her research staffs of the “Revision of Thai Euphorbiaceae” Project, for providing and determining the pollen materials.


## References


Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperm I. Stockholm: Almqvist and Wilsells.

Huang, T. Ch. 1972. Pollen Flora of Taiwan. Taiwan: Chiang-Hwa Press.

Khan, H.A. 1968. Contribution to the pollen morphology of the Euphorbiaceae. *Journal of Palynology (India)* 4:21-35.

Nair, P.K.K. 1971. Pollen morphology of some Indian Plants. *Indian Journal of Science Industry*. 2:45-50.

Punt, W. 1962. Pollen morphorlogy of the Euphorbiaceae with special reference to taxonomy. *Wentia* 7:1-116.

Wodehouse, R.P. 1935. Pollen Grains. New York : Hafner Publishing.

# Cytogenetic Study of Euphorbiaceae in Thailand

**Puangpaka Soontornchainacksaeng[1], Taya Jenjittikul[1], Chadaporn Senakun[2] and Winai Thongpubal[2]**
[1]Department of Plant Science, Faculty of Science, Mahidol University, Rajdhevee, Bangkok 10400
[2]Department of Biology, Faculty of Science, Khon Khaen University, Muang District, Khon Khaen 40002

**Abstract:** Euphorbiaceae were sampled from natural populations in several parts of Thailand. Chromosome number and morphology from various meristematic tissues were investigated using modifed Feulgen squash or smear techniques. Voucher specimens have been made for all samples and deposited at the Department of Plant Science Herbarium at Mahidol University, at Khonkhaen University and at the Royal Garden Suanluang, Rama IX, Thailand. About 200 species of 40 genera were investigated. They showed a great diversity of chromosome numbers between and within genera from 2n=16 to 124. Most species have very small chromosomes ranging from 1.0 to 3.33 μm in size. Polyploids were found in both natural groups and cultivated plants. *Baccaurea, Breynia, Bridelia, Cnesmone, Glochidion, Hevea, Jatropha* and *Macaranga* showed uniform chromosome numbers within each genus. The chromosomes of species in the genera *Acalypha, Euphorbia* and *Phyllanthus* were very variable in size and number. Cytogenetic investigations of more than 100 species were made for the first time. B chromosomes were found in some species of *Phyllanthus* and *Excoecaria.*

Results have provided original data on plant cytogenetics continuously during the 3 year research period. They will not only provide fundamental data for further research, especially as a valuable instrument to give substantial support to plant systematic research and phylogenetics, but are also useful for plant improvement and fertility prediction. These will provide important suggestions for plant conservation strategies. This genetic diversity study will be an important database and a part of the Chromosome Atlas of Plants in Thailand.

**Key words**: Euphorbiaceae, chromosome number, chromosome morphology

## Introduction

The cytological investigation of plants has proven interesting for five reasons. First, for the study of plant systematics, chromosome numbers can be used as a basis of classification of species, genera and families. Secondly, for plant breeders, the genetic structure of groups of plants and, in particular, and information about what species may be crossed or mutations induced and with what results, can be determined. In addition, which hybrids or mutants will be fertile or stable in a given environment can be found out. Thirdly, for the recommendation of plant conservation strategies, e.g., plants that exist with B chromosomes or other fragments in excess to A chromosomes and polyploid plants, except those showing amphipolyploidy are mostly characterised by low fertilility or are sterile. Some plants cannot be propagated vegetatively. Consequently, they are at risk of extinction from the natural habitat in the future. Fourthly, for the geneticist and evolutionist, to discover a fact of value for phylogenetic study from chromosomal variation. Fifthly, for advanced study, cytological investigation gives basic infomative knowledge for molecular genetics study.

Chromosome number and type can be determined from the karyotype. Germ line cells are mostly derived from microsporocytes. They exhibit meiotic configurations that can be used to predict fertility, determine ploidy level, analyse the genome, corroborate similarity or distinguish between plants and have the same application as somatic chromosomes. There are many cytologists who have studied chromosome numbers of plants and recorded basic data in various publications such as the Chromosome Atlas of Cultivated Plants (Darlington and Ammal, 1945), the Chromosome Atlas of Flowering Plants (Darlington and Wylie, 1955) and the Index to Plant Chromosome Numbers (for example, Goldblatt, 1988; Moore, 1973; Moore, 1974).

## The Development of Cytogenetic Techniques

The study of number and structure of chromosomes and of the numerous modifications of structure and behavior as they relate to recombination, transmission and expression of genes is very useful for various types of research, especially in taxonomic and phylogenetic study in developing plant conservation strategies and in plant improvement. Cytologists have devised cytological techniques from time to time to obtain precise information on chromosome numbers and chromosomes structures, to examine cell mechanisms in plant species and to analyse genome and chromosomal abberation. Squash and smear techniques are the basic methods for handling the mitotic and meiotic chromosomes of all plant species along with karyotype analysis and meiotic

configuration. Chromosome banding was developed to facilitate the identification of individual chromosomes and Chromosome Image Analyzing System (CHIAS) has also been used for karyotyping. Modern technologies that are used are chromosome microdissection and *in situ* hybridization. Chromosome segments can be cut off specifically and used as specific probes for molecular cytogenetic study. *In situ* hybridization is a very powerful technique for the detection of specific nucleic acid sequences and for localizing highly repetitive DNA sequences in specific regions of the chromosomes. The application of *in situ* hybridization techniques in plants has lagged behind their use in mammalian cytogenetics. The main handicap to its utilization is obtaining high-frequency mitotic metaphase cells without cell walls and cytoplasmic debris as in mammalian cells. These obstacles hinder hybridization of low-copy-number sequences of the chromosomes. However, *in situ* hybridization techniques (FISH: Fluorescent *in situ* hybridization, GISH: Genomic *in situ* hybridization and Chromosome painting) have been used to identify chromomes in several plant species such as soybean and rice, and particularly wheat and its allies (Soontornchainaksaeng, 1999). However, classical techniques like Fuelgen squash and smear methods are eternally very useful because they need simple instruments and simple chemical reagents. The most important aspect of cytogenetic study is the competence of chromosome identification. On the other hand, high technology techniques like *in situ* hybridization are very expensive and require complicated instruments and expensive chemical reagents but they are very powerful.

**Cytogenetic Study of Plants in Thailand**

A cytological investigation of plants in Thailand has been conducted on particular genera or families of interest. The main objectives are to support plant systematics and improvement. There are many researchers interested in the cytogenetic study of plants in Thailand. Up until the year 2000, chromosome numbers have been investigated in more than 75 families and 800 species and in about 1,000 cultivars (Table 1). This work includes research that has been formally published and that is unpublished (Table 1). Most of them are flowering plants. There are 574 species and 664 cultivars of monocotyledons and 214 species and 264 cultivars of dicotyledons. Chromosomes in plants of two families, Orchidaceae and Zingiberaceae, have been investigated much more than other families; 181 cultivars, 178 species and 53 genera of Orchidaceae and 110 cultivars, 108 species and 14 genera of Zingiberaceae have been investigated. Most investigated chromosomes were reported in "Chromosome numbers review of monocotyledons from Thailand I, II, III" (Soontornchainaksaeng and Chaiyasut 2001a, 2001b, Soontornchainaksaeng and Jenjittikul, 2001) and in "Chromosomal variation of dicotyledons recorded from Thailand I and II" (Soontornchainaksaeng and Chaiyasut, 2001c). Gymnosperm and ferns were also investigated for 1 species and 5 species, respectively. These cytological data will be valuable not only for further studies but also for avoiding repetitive research. This preliminary information will continue to be recorded in the Chromosome atlas of plants in Thailand.

Nevertheless, the Thai flora seems to be a blank page from a cytological point of view, whereas in neigbouring areas like India and Japan, numerous works in this field have been published during more than three decades. The records of chromosome numbers determined in Thai plants is, of course, a small part only of the rich tropical flora that is indigenous to Thailand. Generally, monocotyledons which are mostly herbaceous plants have, on average, less chromosome numbers than woody plants (dicotyledons; shrubs and trees) while chromosome sizes are larger. Root tips of monocotyledons are effective materials for chromosome investigation. They are pretreated for slide preparation, are highly stained and chromosomes are easily identified. Consequently much more, cytogenetic investigations of monocotyledons have been made than for dicotyledons. Cultivated plants were also studied much more than Thai native wild types. Consequently it is very interesting to study Thai native wild type plants which will provide valuable basic data for a variety of further studies or to obtain original information about cytogenetics and plant cell biology.

**Cytogenetic Study of Euphorbiaceae in Thailand**

The Euphorbiaceae is recognized as one of the largest families among dicot plants. This family comprises 8,000 species in about 300 genera (Perry 1978). Its members grow in a variety of habitats from tropical to temperate areas and exhibit considerable diversity in growth types. The family is characterized as follows: Trees or shrubs, more rarely herbs, a few twining and frequently laticiferous; Leaves simple and usually entire margin and generally alternate; Flowers hypogynous,

actinomorphic, mostly unisexual; androecium 1-∝; ovary of 3 carpels, trilocular, with 1 or 2 suspended ovules in each cell; micropyle directed upwards and outwards and covered with a fleshy outgrowth (caruncle); Fruit almost invariably a schizocarp-capsule, splitting into carpels, often elastically (Perry 1978, Ridley 1924). More than 400 species in 80 genera have been found in Thailand. Many of them are important as medicinal plants and have other economic uses, but taxonomic data on these plants have not been organised systematically.

Additional interest in Euphorbiaceae is due to the morphological similarity between plants as well as the great diversity of chromosome numbers (2n=12 to 224) (Perry, 1943) and sizes both between and within natural groups or cultivated plants. Very few chromosome numbers have been previously recorded. Until the results of this study, cytogenetic investigations of only 2 species from Thailand (Somboonsarn, 1983) and about 246 species from all over the world had been reported.

The results of the present study will not only provide fundamental data for further research, especially as a valuable instrument of substantial support for plant systematic research and phylogenetics, but will also be useful for plant improvement and fertility prediction. These will give important information that will be useful for the development of plant conservation strategies. This genetic diversity study will be an important database and form a part of the Chromosome Atlas of Plants in Thailand.

Table 1. Chromosome numbers investigated for plants in Thailand (Soontornchainaksaeng and Chaiyasut 2001a, 2001b, 2001c, Soontornchainaksaeng and Jenjittikul, 2001).

| Family | No. of Genera | No. of Species | No. of Cultivars | 2n* | Family | No. of Genera | No. of Species | No. of Cultivars | 2n* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Acanthaceae | 2 | 2 | 2 | 16-34 | Graminaceae | 62 | 98 | 104 | 12-108 |
| Actinidiaceae | 1 | 1 | 6 | ca.166 | Halorrhagidaceae | 1 | 1 | 1 | 24 |
| Agavaceae | 1 | 1 | 1 | 84 | Heligonaceae | 1 | 12 | 15 | 22-36 |
| Alismataceae | 3 | 5 | 5 | 22-42 | Hydrochalitaceae | 10 | 16 | 16 | 16-72 |
| Alliaceae | 1 | 5 | 5 | 16-18 | Hypoxidaceae | 1 | 1 | 1 | 18 |
| Amaranthaceae | 1 | 1 | 1 | 46-48 | Iridaceae | 4 | 4 | 5 | 12-60 |
| Amaryllidaceae | 9 | 24 | 24 | 18-72 | Juglandaceae | 1 | 1 | 1 | 32 |
| Apocyceae | 2 | 2 | 3 | 16-18 | Labiatae | 1 | 1 | 1 | 24-40 |
| Araceae | 17 | 47 | 74 | 24-60 | Leguminosae | 30 | 71 | 77 | 12-48 |
| Araliaceae | 1 | 1 | 1 | 36 | Liliaceae | 17 | 30 | 30 | 14-112 |
| Asclepiadaceae | 3 | 3 | 3 | 22 | Limnocharitaceae | 1 | 1 | 1 | 20 |
| Balsaminaceae | 1 | 1 | 1 | 14 | Malphighiaceae | 3 | 3 | 3 | 18-26 |
| Bignoniaceae | 6 | 7 | 7 | 20-40 | Menispermaceae | 3 | 5 | 5 | 26-50 |
| Burmanniaceae | 1 | 3 | 3 | 32-136 | Moraceae | 3 | 3 | 11 | ca.24-56 |
| Butomaceae | 2 | 2 | 2 | 16-20 | Moringaceae | 1 | 1 | 1 | 28 |
| Campanulaceae | 1 | 1 | 1 | 63-64 | Musaceae | 1 | 3 | 55 | 22-44 |
| Cannabudaceae | 1 | 1 | 1 | 20 | Najadiaceae | 1 | 1 | 1 | 12 |
| Cannaceae | 1 | 1 | 4 | 18 | Nelumbonaceae | 1 | 1 | 3 | 16-18 |
| Capparaceae | 1 | 1 | 1 | 20 | Nymphaeceae | 1 | 4 | 8 | 28 |
| Caryophyllaceae | 1 | 1 | 1 | 30 | Opiliaceae | 1 | 1 | 1 | 20 |
| Centrolepidaceae | 1 | 1 | 1 | 40 | Orchidaceae | 53 | 172 | 180 | 22-154 |
| Chenopodiaceae | 1 | 1 | 1 | 18 | Piperaceae | 2 | 3 | 7 | 44-52 |
| Cleomeceae | 1 | 2 | 2 | 20-34 | Plantaginaceae | 1 | 1 | 1 | 24 |
| Commelinaceae | 5 | 8 | 8 | 12-60 | Rosaceae | 2 | 3 | 19 | 16-26 |
| Combretaceae | 1 | 1 | 1 | 26 | Rubiaceae | 2 | 2 | 2 | 22-40 |
| Compositae | 5 | 8 | 9 | 20-54 | Samilaceae | 1 | 2 | 2 | 16 |
| Convolvulaceae | 2 | 2 | 2 | 18-30 | Solanaceae | 5 | 14 | 14 | 12-72 |
| Costaceae | 1 | 5 | 5 | 18-64 | Sphenocleaceae | 1 | 1 | 1 | 40 |
| Crassulaceae | 1 | 1 | 1 | 34,68 | Taccaceae | 1 | 1 | 1 | 28 |
| Cruciferae | 4 | 7 | 7 | 16-36 | Trilliaceae | 1 | 1 | 1 | 10+2B |
| Cucurbitaceae | 2 | 2 | 2 | 18-26 | Triuridaceae | 1 | 1 | 1 | 28 |
| Dipterocarpaceae | 2 | 2 | 2 | 20 | Umbelliferae | 1 | 1 | 1 | 18 |
| Droseraceae | 1 | 2 | 2 | 32-40 | Vacciniaceae | 3 | 4 | 4 | 24-48 |
| Eriocaulaceae | 1 | 7 | 7 | 30-110 | Valerianaceae | 1 | 1 | 1 | 14 |
| Euphorbiaceae | 42 | 185 | 189 | 16-124 | Verbenaceae | 1 | 1 | 1 | 54 |
| Gesneriaceae | 1 | 1 | 1 | 30 | Xyridaceae | 1 | 2 | 2 | 34 |
| | | | | | Zingiberaceae | 14 | 108 | 109 | 20-92 |

* somatic number, ca. = count average

## Study Area

Euphorbiaceae were sampled from natural populations in all parts that are botanically rich in Thailand, particulary from the national parks marked on Fig. A. as well as from the sides of roads.

## Methods

Flower buds of Euphorbiaceae from natural populations in several sites of Thailand (Fig. A) were harvested and fixed in Carnoy's solution. Some species samples were obtained from various sources as small plants. Root tips and young leaves were pretreated in a saturated solution of alpha-bromonaphthalene and fixed in 90% acetic acid. Slides were prepared by using a modification of propionocarmine smear and Feulgen squash techniques (Darlington and La Cour 1966, Sharma and Sharma 1980). Cytogenetic study was made from well-spread chromosomes in various meiotic stages of pollen mother cells and the mitotic metaphase of mitotic meristems. Chromosome numbers were determined approximately from twenty-five cells viewed using a light microscope (Olympus model BHA). The best cells were photographed at 100X and using an oil emersion objective. Voucher specimens were made for all samples and placed in the Department of Plant Science Herbarium at Mahidol University, the Department of Biology Herbarium at Khonkhaen University and the Royal Garden Suanluang, Rama IX, Bangkok.

Figure A. Profile diagram of the collection sites of Euphorbiaceae.

## Results and Conclusions

The cytogenetic investigation of Euphorbiaceae was mainly made using microsporocytes, which can be immediately fixed. Moreover, cytogenetic observation was made at various stages of meiosis, in which homologous chromosomes were pairing such as in the first metaphase and during diakinesis. Consequently small chromosomes can be clearly seen and identified. The main obstacle to cytogenetic study of Euphorbiaceae are the very small chromosomes and the fact that some plants grow on very high cliffs, which makes collection very difficult.

Cytogenetic investigation was conducted of the collected samples. The results are presented as chromosome numbers and as meiotic figures as seen in Table 2 and Figs 1-8 (Soontornchainaksaeng and Chaiyasut, 1999). Plant identification was made following the main taxonomic literature of Shaw (1972) and Smittinand (1980). Chromosome numbers of 141 cultivars and 135 species in 42 genera and about 50 unidentified samples were investigated (Table 3). The results revealed that chromosomes of Euphorbiaceae are very small in size and range from 1.0 to 3.33 μm. *Strophioblachia fimbricalyx* Boerl. distinctly consists of the largest bivalents, about 5.33-8.67 μm (Fig 1).

Plants in the same genus mostly have the same chromosome numbers or differ especially in ploidy level, such as *Baccaurea, Breynia, Bridelia, Cnesmone, Glochidion, Hevea, Jatropha* (Figs. 9-14) and *Macaranga*. Likewise various cultivars or plants in a species which produce flowers of different color also have uniform chromosomes such as *Euphorbia pulcherrima* Willd. cv. red bract (Fig. 2) and cv. yellowish white bract (2n = 28), *Jatropha integerima* L. cv. red flower and cv. pink flower (2n = 22) (Figs. 11-12) and *Trigonostemon reidiodes* (Kurz) Craib cv. red flower, cv. pink flower and cv. white flower (2n = 22). Moreover, results of this study also indicated that plants of the same species but collected from different sites have uniform chromosomes. Thus geographical differences have no effect on chromosome number. Chromosome invariability found in various cultivars in the same species indicated that differences between cultivars may be caused by genetic variation at the molecular level, which consequently causes morphological differences. However, there are a few exceptions in which each species within a genus has extremely different chromosome numbers, e.g., *Acalypha*, *Euphorbia* and *Phyllanthus*. In particular, chromosome numbers, chromosome sizes and certain morphlogical differences may suggest that the genus *Euphorbia* could be broken up into several genera. On the other hand, it was found that plants with morphological similarity

and have the same chromosome number and some are different in size. In *E. heterophylla* L., *E. leucocephala* Lotsy. and *E. pulcherrima* Willd. were found 1-3 quadrivalents at diakinesis and the first meiotic metaphase.

Diploid and polyploid plants were found in both natural groups and cultivated plants. Polyploidy, which is not only euploidy but also aneuploidy can be identified from meiotic figures. A chain of six chromosomes was found in the first meiotic metaphase in *E. cotinifolia* L. (Fig. 3). These chromosomes are smaller than the rest which form normal bivalents. *Excoecaria cochinchinensis* Lour. showed 5 rod II+1 ring II+1 ring IV+1 ring VI of 2n=22 (Fig. 4). Its chromosomes divide regularly in 11:11. Moreover, irregular meiosis was found in *E. milii* Desmoul. (Fig. 5) and *Hura crepitans* L. (Fig. 6) which are both cultivated as ornamental plants. The first of these two species has 2n=40 and showed the highest multivalent chain of 24 chromosomes with 1 quadrivalent, 2 bivalents and 8 univalents at the first meiotic metaphase. Its chromosomes divide in ratios of 20:20 and 19:21. On the other hand, *Hura crepitans* L. has 2n=44. Meiotic chromosomes form bivalents and some irregular multivalents of 4 and 8 chromosomes. *Sauropus androgynos* (L.) Merr (Fig. 7). has a chromosome number 2n=52 which is different from the other species studied. It showed some bivalents and multivalents of 4 and 12 chromosomes at the first meiotic metaphase. However, some of them were intraspecific or interspecific hybrids which are found as translocation heterozygotes, but sometimes their chromosomes divide regularly during meiosis. This mechanism makes them fertile and stable. B chromosomes were found in some species of *Phyllanthus* (Fig. 8) and *Excoecaria*. Their sizes are very small. B chromosomes are generally very small or about half as large as A chromosomes (Horiuchi et al. 1995, Moore 1976). Very few of them can synapse with A chromosomes. This makes them move randomly during meiosis and sometimes interfere with chiasmata frequency and plant fertility. It indicates that plants carring B chromosomes may have a further change in cytological and morphological characters. Furthermore, the results indicate that a cytological analysis relating to plant improvement should be conducted on plants such as *Alchornea, Baliospermum*, *Croton* and *Ricinus* which are very important in medicinal uses. They have a few chromosomes in a complement. Most of them showed regular meiosis. They have the possibility to double their chromosomes and/or to construct interspecific hybrids to improve medicinal yeilds.

The relationships between plants is also discussed based on cytological characters (chromosome number and the features of chromosomes and cells). For example, *Mallotus* and *Macaranga* have a very close relationship from the point of view of both morphology and cytogenetics (chromosome numbers). The results from this research indicates that these two genera can be divided based on cytological characters. The first genus has the largest chromosomes and the largest nucleus in comparison with the cell size, which generally existed from diakinesis to metaphase I. The second genus carried smaller chromosomes in a smaller nucleus and cell size which generally exists in anaphase I. On the other hand, *Codiaeum* is a genus which has high variation in leaf shape, leaf color and plant size. Most of them are ornamental plants. They also carry various chromosome numbers (2n=80-104) and show various forms of meiotic figures and are good examples for cytogenetic study of hybrids.

This research gives us the opportunity to find out much original information in plant cytogenetics and plant cell biology. We will distribute this valuable khowledge to students and interested researchers. However, the Thai flora is still a blank page from a cytological point of view, whereas in neighbouring areas and in other countries like India, Japan, the USA and the Netherlands, there are numerous works in this field that have been published and cytological methods have been applied widely in various branches. This cytogenetic investigation is, of course, a small part only of the rich tropical flora indigenous to Thailand and ongoing study should be supported.

Table 2. A part of the results of cytogenetic investigations in 36 species and 18 genera of Euphorbiaceae in Thailand (Soontornchainaksaeng and Chaiyasut, 1999).

| **Genus** | Chromosome number | | | Meiotic | Locality | Coll. No. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Species | x | n | 2n | Configuration | | |
| **Acalypha** | 7 | | | | | |
| *A. indica* L. | | 10 | 20 | 10II | Bangkok | 181 |
| **Bridelia** | 7 | | | | | |
| *B. harmandii* Gagnep. | | 13 | 26 | 13II | Sakolnakorn | 108 |
| ***Cladogynos*** | | | | | | |
| *C. orientalis* Zipp.ex. Span. | | | 32* | | Nakornpathom | 182 |
| ***Croton*** | 8 | | | | | |
| *C. bonplandianus* Baillon | | 10 | 20 | 10II | Prachaub | 087 |
| *C. robustus* Kurz. | | 10 | 20 | 10II | Cheingmai | 024 |
| *C. sublyratus* Kurz. | | 10 | 20 | 10II | Chacheongcao | 046 |
| *C. tiglium* L. | | 10 | 20 | 10II | Nakornpathom | 183 |
| ***Euphorbia*** | 6,7,8, 9,10 | | | | | |
| *E. antiquorum* L. | | | 60* | | Mugdaharn | 184 |
| *E. atoto* Forst. f. | | | 16 | 8II | Chantaburi | 190 |
| *E. cotinifolia* L. | | | 28 | 8I+6II+1VIII | Nakornpathom | 039 |
| *E. heterophylla* L. | | | 28 | 12II+1IV | Nakornpathom | 191 |
| *E. hirta* L. | | | 18 | 9II | Nakornpathom | 189 |
| *E. leucocephala* Lotsy. | | | 28 | 12II+1IV | Cheingmai | 035 |
| *E. ligularia* Roxb. | | | 60* | | Nakornpathom | 185 |
| *E. milii* Desmoul. | | | 40 | 8I+2II+1IV+ 1XXIV | Nakornpathom | 188 |
| *E. pulcherrima* Willd. | | | 28 | 8II+3IV | Cheingmai | 019 |
| ***Excoecaria* L.** | 12 | | | | | |
| *E. cochinchinensis* Lour. | | | | 6II+1IV+1VI | Petchaboon | 026 |
| ***Hevea*** | 9 | | | | | |
| *H. brasiliensis* Muell. Arg. | | | 36 | 18II | Chacheongcao | 193 |
| ***Hura*** | 11 | | | | | |
| *H. crepitans* L. | | 11 | 44 | 10II+4IV+1VIII | Bangkok | 054 |
| ***Jatropha*** | 11 | | | | | |
| *J. curcas* L. | | 11 | 22 | 11II | Nakornpathom | 041 |
| *J. gossypiifolia* L. | | 11 | 22 | 11II | Nakornpathom | 042 |
| *J. integerrima* L. | | | | | | |
| red flower | | 11 | 22 | 11II | Bangkok | 194 |
| pink flower | | 11 | 22 | 11II | Bangkok | 195 |
| *J. multifida* L. | | 11 | 22 | 11II | Nakornpathom | 196 |
| *J. podagrica* L. | | 11 | 22 | 11II | Nakornpathom | 197 |
| ***Mallotus*** | 9 | | | | | |
| *M. barbatus* Muell. Arg. | | 11 | 22 | 11II | Prachaub | 148 |
| ***Manihot*** | 9 | | | | | |
| *M. esculenta* Crantz. | | | 36* | | Rayong | 198 |
| ***Pedilanthus*** | 9 | | | | | |
| *P. tithymaloides* Poit | | | 36* | | Lampang | 043 |
| ***Phyllanthus*** | 7 | | | | | |
| *P. acidus* (L.) Skeels | | | 28 | 14II | Nakornpathom | 199 |
| *P. emblica* L. | | | 104 | 52II | Kanchanaburi | 053 |
| *P. pulcher* Wall. ex Muell. Arg. | | | 50+6 - 10B | 25II+6-10B | Nakornpathom | 044 |
| ***Ricinus*** | 10 | | | | | |
| *R. communis* L. | | 10 | 20 | 10II | Nakornpathom | 200 |
| ***Sampantaea*** | | | | | | |
| *S. amentiflora* Airy Shaw | | 11 | 22 | 11II | Chacheongchao | 016 |
| ***Sauropus*** | | | | | | |
| *S. androgynos* (L.) Merr. | | | 52 | 13II+2IV+1VI+ 1XII | Nakornpathom | 201 |
| ***Strophioblachia*** | | | | | | |
| *S. fimbricalyx* Boerl. | | 9 | 18 | 9II | Nakornpathom | 176 |
| ***Thyrsanthera*** | | | | | | |
| *T. suborbicularis* Pierre ex Gagnep. | | 11 | 22 | 11II | Chaiyapoom | 090 |

* = somatic metaphase  Coll. No. = Puangpaka et al. no.
I = univalent  III, IV,…24 = multivalent of 3, 4,…24 chromosomes
II = bivalent

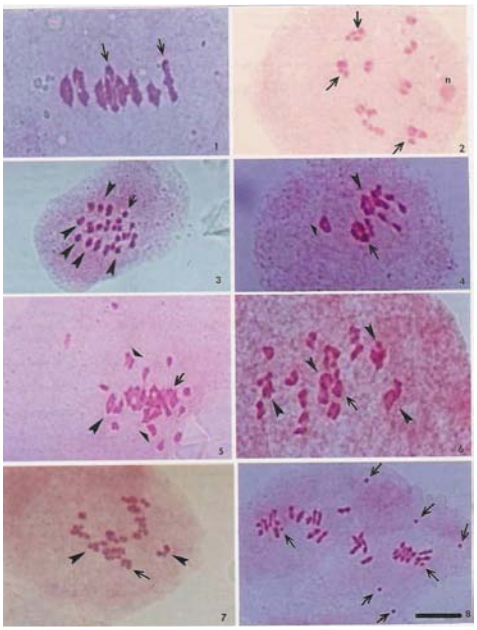


Figure 1-8. 1) First meiotic metaphase chromosomes of *Strophioblachia fimbricalyx* Boerl. (n=9; 7ringII+2rodII indicated by arrows). They are the largest chromosomes in this study. 2) Diakinesis chromosomes of *Euphorbia pulcherrima* Willd. (2n=14; 8II+3IV). Quadrivalents are indicated by arrows and n=nucleolus. 3) First meiotic metaphase chromosomes of *Euphorbia cotinifolia* L.(n=14; 1VI+6II+10 divided chromosomes). Arrows and arrow head indicate a chain of six and divided chromosomes. 4) First meiotic metaphase chromosomes of *Excoecaria cochinchinensis* Lour. (n=11; 1VI+1IV+6II). A ring of six chromosomes, a ring of four and a ring of bivalent chromosomes are indicated by an arrow, long arrow head and short arrow head, respectively. 5) First meiotic metaphase chromosomes of *Euphorbia milii* Desmoul. (n=20; 1XXIV+1IV+2II+8I). A chain of 24 chromosomes, a quadrivalent, and a bivalent are indicated by an arrow, long arrow head and short arrow head, respectively. 6) First meiotic metaphase chromosomes of *Hura crepitans* L. (n=22; 1VIII+4IV+10II). A chain of 8 chromosomes and a quadrivalent are indicated by an arrow and arrow heads, respectively. 7) First meiotic metaphase chromosomes of *Sauropus androgynos* (L.) Merr. (n=26; 1XII+2IV+16II). A chain of 12 chromosomes and a quadrivalent are indicated by an arrow and arrow heads, respectively. 8) First meiotic metaphase chromosomes of *Phyllanthus emblica* L. (n=25+7B; 25II+7B). B chromosomes are indicated by arrows. Bar represents 10 µm (Soontornchainaksaeng and Chaiyasut, 1999).

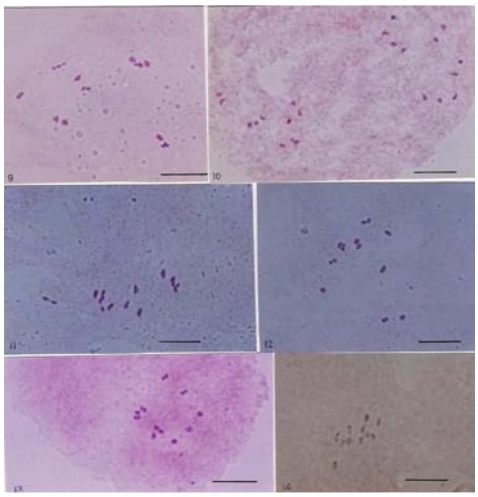


Figure 9-14. Chromosomes of *Jatropha*, which are uniform in number with 2n = 22 for all species. 9) First meiotic anaphase of *J. curcas* L. (n = 11; :11). 10) First meiotic anaphase of *J. gossypifolia* L. (n = 11; 7ringII + 4rodII). 11) First meiotic anaphase of *J. integerrima* Jacq. (cv. Red flower) (n = 11; 6ringII + 5rodII). 12) First meiotic anaphase of *J. integerrima* Jacq.(cv. Pink flower) (n = 11; 6ringII + 5rodII). 13) First meiotic anaphase of *J. multifida* L. (n = 11; 7ringII + 4rodII). 14) First meiotic anaphase of *J. podagrica* Hook. f. (n = 11; 8ringII + 3rodII). Bars represent 10 µm.

Table 3. Chromosome numbers of Euphorbiaceae investigated in Thailand.

| Genus | Species | cultivars | 2n* | Genus | Species | cultivars | 2n* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Acalypha* | 4 | 4 | 20-86 | *Hevea* | 1 | 1 | 36 |
| *Alchornea* | 1 | 1 | 18 | *Hura* | 1 | 1 | 44 |
| *Aporusa* | 3 | 3 | 26-50 | *Jatropha* | 5 | 6 | 22 |
| *Baccaurea* | 3 | 3 | 26 | *Leptopus* | 3 | 3 | 26-52 |
| *Balakata* | 1 | 1 | 44 | *Macaranga* | 5 | 5 | 22 |
| *Baliospermum* | 1 | 1 | 22 | *Margaritaria* | 1 | 1 | 24 |
| *Breynia* | 3 | 3 | 52 | *Mallotus* | 9 | 9 | 22-24 |
| *Bridelia* | 3 | 3 | 26 | *Manihot* | 2 | 2 | 36 |
| *Cladogynos* | 1 | 1 | 32 | *Microstachus* | 1 | 1 | 34 |
| *Cleidion* | 1 | 1 | | *Pedianthus* | 1 | 1 | 36 |
| *Cleisanthus* | 1 | 1 | 48 | *Phyllanthus* | 18 | 18 | 24-104 |
| *Cloxylon* | 1 | 1 | 88 | *Ricinus* | 1 | 1 | 20 |
| *Cnesmone* | 2 | 2 | 36 | *Sampantaea* | 1 | 1 | 22 |
| *Codiaeum* | 1 | 3 | 80-104 | *Sauropus* | 11 | 11 | 52-104 |
| *Croton* | 14 | 14 | 16-20 | *Strophioblachia* | 1 | 1 | 18 |
| *Drypetes* | 1 | 1 | 20 | *Suregada* | 1 | 1 | 22 |
| *Epiprinus* | 1 | 1 | 20 | *Synostemon* F. Muell. | 1 | 1 | 46 |
| *Euphorbia* | 15 | 16 | 16-60 | *Thysanthera* | 1 | 1 | 22 |
| *Excoecaria* | 3 | 3 | 22-124 | *Trewia* L. | 1 | 1 | 22 |
| *Fluggea* | 2 | 2 | 26 | *Trigonostemon* Bl. | 4 | 6 | 22-44 |
| *Glochidion* | 3 | 3 | 52 | *Vernicia* | 1 | 1 | 22 |

* somatic number

**Acknowledgements**

The authors would like to express our sincere thanks to Dr. Konkanda Chayamarit, Asst. Prof. Jirayupin Juntaraprasong, Miss Leena Pupatanapong, Assoc. Prof. Pranom Chantaranothai, Mr. Pongsak Polsena and all staff on the project of the Botanical Study of Euphorbiaceae in Thailand for kindly providing samples and plant identification. This work was supported by the TRF/BIOTEC Special Program for Biodiversity Research and Training grant BRT 140002.

**References**

Airy Shaw, H.K. 1972. The Euphorbiaceae of Siam. *Kew Bulletin*. 26: 191-363.

Darlington, C.D. and A.P. Wylie. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. George Allen and Unvin, London.

Darlington, C.D. and E.K.J. Ammal. 1945. Chromosome Atlas of Cultivated Plants. The University Press, Aberdeen, U.K.

Darlington, C.D. and L.P. La Cour. 1966. The Handling of Chromosomes. George Allen and Unvin, London.

Goldblatt, P. 1988. Index to Plant Chromosome Numbers 1984-1985. The Missouri Botanical Garden, U.S.A.

Horiuchi, G., K. Niwa and Y. Hirai. 1995. Meiotic configuration of a cultivated ryle collected from China. *Cytologia* 60: 243-247.

Moore, D.M. 1976. Plant Cytogenetics. Jones Willey and Sons Inc., New York.

Moore, R.J. 1973. Index to Plant Chromosome Numbers for 1967-1971. Oosthoek's Uitgeversmaatschappij B.V., Domstraat 5-13, Utrecht, Netherlands.

Moore, R.J. 1974. Index to Plant Chromosome Numbers for 1972. Oosthoek, Scheltema & Holkema, Emmalaan 27, Utrecht, Netherlands.

Perry, B.A. 1943. Chromosome number and phylogenetic relationships in the Euphorbiaceae. *Amer. J. of Bot*. 30: 527-543.

Perry, L.M. 1978. Medicinal Plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses. The MIT Press, England.

Ridley, H.N. 1924. The Flora of the Malay Peninsula (Vol. III). L. Reeve & Co. Ltd., London, U.K.

Sharma, A.K. and A. Sharma. 1980. Chromosomes Techniques (Theory and Practice). 3rd ed., Butterworts Press, London.

Somboonsarn, N. 1983. Morphological, Anatomical and Cytological Investigation of Some Hydrocarbon Plants. Thesis of Masters Degree, Graduate School, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.

Soontornchainaksaeng, P. 1999. Chromosome technology in plant research, in Trends of plant cell culture and biotechnology for micropropagation, plant productions and crop improvement, 4-6 October 1999, Room 101, NSTDA Building.

Soontornchainaksaeng, P. and K. Chaiyasut. 1999. Cytogenetic investigation of some Euphorbiaceae in Thailand. *Cytologia* 64: 229-234.

Soontornchainaksaeng, P. and K. Chaiyasut. 2001a Chromosome number reviews of monocotyledons from Thailand I. (in press)

Soontornchainaksaeng, P. and K. Chaiyasut. 2001b. Chromosome number reviews of monocotyledons from Thailand III. (in press)

Soontornchainaksaeng, P. and K. Chaiyasut. 2001c. Chromosomal variation of dicotyledons recorded from Thailand I-II. (in press).

Soontornchainaksaeng, P. and T. Jenjittikun. 2001. Chromosome number reviews of monocotyledons from Thailand II. (in press)

# การศึกษาแมลงน้ำในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

**นฤมล แสงประดับ[1], ชุติมา หาญจวณิช[1], สุพัตรา ปานรงค์[2], ประสาท เนืองเฉลิม[1], วิไลลักษณ์ ไชยปะ[1], อลงกรณ์ ผาผง[1], บุญเสฐียร บุญสูง[1] และศิริพร แซ่เฮง[1]**

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง ขอนแก่น 40002

[2]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ สงขลา 90112

## Abstract: Studies on Aquatic Insects in Northeastern Thailand

Studies on aquatic insects, especially caddisflies and mayflies which are important groups for freshwater environmental assessment, were conducted in Nam Nao National Park. The aims of the studies were to explore diversity and to investigate life history patterns, ecology and environmental factors that determine larval distribution in Phromlaeng and Yakruae streams. Because species can not be identified in the larval stage, it was necessary to rear mature larvae and/or pupae in the laboratory in order to associate the larval or pupal stage with the adult. Sixteen, 11, 5, 8 and 4 species of hydropsychid, leptocerid and philopotamid caddisfly and leptophlebiid and heptageniid mayfly adults, respectively, were found. Nine, 8, 6, 8 and 5 species of hydropsychid, leptocerid and philopotamid caddisfly and leptophlebiid and heptageniid mayfly larvae respectively coexisted in the streams. The larvae showed resource partitioning. Habitat and/or diet partitioning combined with differences in substrate compositions and water current preference were important in determining the distribution of larvae. Immature stages of 15 species were successful associated with adults. Almost caddisflies and mayflies showed non-seasonal life history patterns, which resulted in the presence of several larval stages over several months. The flight-period occurred all year round. Hydrosychid and philopotamid larvae were filter collectors while the others were gathering collectors. They fed particularly on detritus and, so, they have important roles in detritus processing and nutrient recycling in headwater streams. Flooding and desiccation were factors that controled larval populations. The construction of a small weir which modified stream characteristics resulted in faunal reduction. The results of this study provide additional data for appropriate land use management in the National Park. In addition, a comparative study of the on diversity of lenthic and lotic hemipterans was conducted at 16 sampling sites in Phu Phan National Park. Forty-four species, 34 genera and 11 families of aquatic bugs were collected. Diversity was higher in lotic than lenthic habitats. Gerridae and Veliidae were most diverse and were widely distributed in both habitats. *Rhyacobates imadatei* and *Chenevelia stridulans* were abundant in lenthic habitats but *Limnometra matsudai* were more abundant in lotic habitats.

**Key words:** aquatic insects, caddisfly, mayfly, bugs, diversity, life history pattern, coexistence

## บทนำ

แมลงน้ำเป็นองค์ประกอบชีวภาพที่สำคัญยิ่งในระบบนิเวศน้ำจืด เนื่องจากมีความหลากหลายและมีจำนวนมาก (Brown and Brown, 1984; Merrit and Cummins, 1984) มีบทบาทสำคัญในห่วงโซ่อาหาร คือ เป็นอาหารของปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ รวมทั้งนก และค้างคาว (Edward et al., 1990) ในปัจจุบันมีการพัฒนานำข้อมูลเกี่ยวกับความหลากหลายของตัวอ่อนแมลงน้ำมาใช้ประเมินคุณภาพ และผลกระทบสิ่งแวดล้อม รวมทั้งนำมาเป็นข้อมูลร่วมในการจัดการพื้นที่ และการใช้ที่ดินในแหล่งน้ำจืดของหลายประเทศในทวีปยุโรป อเมริกา และออสเตรเลีย (Hellawell, 1986; UNEP, WHO, UNESCO and WMO, 1992; Rosenberg and Resh, 1993; Hawkins and Vinsons; 2000; Hawkins et al., 2000) วิธีการประเมินทางชีวภาพเป็นวิธีการหลักในการวัดสุขภาพของระบบนิเวศแหล่งน้ำผิวดิน (ecological health of surface water) (Hawkins and Norris, 2000) แนวคิดการใช้วิธีนี้ในการบ่งชี้คุณภาพแหล่งน้ำและสิ่งแวดล้อมในลำธารและแม่น้ำเริ่มขึ้นในประเทศเยอรมัน โดยนักธรรมชาติวิทยา (Kolkwitz and Marsson, 1908, 1909) ซึ่งเสนอระบบ Saprobien สำหรับการบ่งชี้มลภาวะจากสารอินทรีย์ ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดลง ระบบนี้ประกอบด้วยบัญชีรายชื่อของสิ่งมีชีวิตหลายชนิดที่เป็นตัวบ่งชี้ เช่น บักเตรี สาหร่าย ฟังไจ โปรโตซัว และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง สำหรับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ตัวอ่อนแมลงชีปะขาวและตัวอ่อนแมลงหนอนปลอกน้ำถูกจัด

จำแนกเป็น intolerant indicator species บ่งชี้น้ำสะอาด ในขณะที่ตัวอ่อนริ้นน้ำจืด (หนอนแดง) และหนอนไส้เดือนถูกจัดจำแนกเป็น tolerant indicator species บ่งชี้มลภาวะของน้ำ แนวคิดนี้เป็นที่ยอมรับและได้รับการพัฒนาให้เหมาะสมกับประเทศที่นำไปใช้ เช่น พัฒนาเป็นระบบ BMWP Score (BioMonitoring Working Party Score) ของสหราชอาณาจักร (National Water Council, 1981), Belgian Biotic Index (De Pauw and Vanhooren, 1983) ในประเทศเบลเยี่ยม มีการดัดแปลงวิธีการของ BMWP Score ไปใช้นอกทวีปยุโรป เช่น อัฟริกา (Chutter, 1972) ออสเตรเลีย (Campbell, 1982; Chessman, 1995) อินเดีย (De Zwart and Trivedi, 1994) และประเทศไทย (Mustow, 1997; Sangpradub et al., 1999) ในประเทศสหรัฐอเมริกามีการใช้ข้อมูลแมลงน้ำมาร่วมประเมินคุณภาพแหล่งน้ำ (Hellawell, 1989) และปัจจุบันได้พัฒนาเป็นวิธีการที่รวดเร็วขึ้น (Rapid assessment) (Resh and Jackson, 1993) protocol ที่นิยมมาก คือของ Plafkin และคณะ (1989) ในส่วนของแมลงน้ำข้อมูลที่นำมาพิจารณา คือ EPT (Ephemeroptera Plecoptera Trichoptera) Richness, percent of scrapers, scraper/filterer ratio และ EPT/chironomid ratio เป็นต้น นอกจากนี้ Lemly (1998) ได้วิจัยพบว่าบักเตรีที่ขึ้นบนตัวของแมลงน้ำ มีศักยภาพที่จะมาใช้เป็นวิธีการทางชีวภาพสำหรับประเมินคุณภาพน้ำได้ แม้จะมีการนำไปใช้ประโยชน์ในหลายประเทศทั่วโลกดังกล่าว แต่การนำข้อมูลตัวอ่อนแมลงน้ำมาใช้ในประเทศแถบเอเชียยังมีน้อยมาก (Rundel et al., 1993; Dudgeon, 1994) เนื่องจากความรู้เกี่ยวกับระยะตัวอ่อนใน
ภูมิภาคนี้ยังมีน้อย การศึกษาในภูมิภาคนี้ส่วนใหญ่สนใจด้านอนุกรมวิธานและการแพร่กระจายของระยะตัวเต็มวัยมากกว่า (Hynes, 1984) กลุ่มของแมลงน้ำที่มีการศึกษาอย่างต่อเนื่องและมากที่สุดในประเทศไทย คือ กลุ่มแมลงหนอนปลอกน้ำ (อันดับ Trichoptera) โดย ดร.พรทิพย์ จันทรมงคล จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทำวิจัยร่วมกับ ศาสตราจารย์ Hans Malicky จาก Lund University ประเทศออสเตรีย ซึ่งได้รายงานการสำรวจเบื้องต้นแมลงหนอนปลอกน้ำในประเทศไทยว่า ที่พบและได้รับการตั้งชื่อแล้วมีประมาณ 494 ชนิด จำนวนชนิดเพิ่มมากขึ้นเมื่อขยายพื้นที่การสำรวจเพิ่มขึ้น (Malicky and Chantaramongkol, 1999) มีการศึกษามวนน้ำโดยกลุ่มนักวิจัยชาวต่างชาติที่รวมตัวกันเป็นกลุ่มวิจัย Heteroptera of Thailand ประกอบด้วยสมาชิก เช่น Dr. Herbert Zettle ประเทศออสเตรีย Dr Nico Nieser ประเทศเนเธอร์แลนด์ และ Dr Pingping Chen สาธารณรัฐประชาชนจีน เป็นต้น โดยได้จัดทำเอกสารชื่อ Amembo เผยแพร่ผลงานวิจัยมวนน้ำประเทศไทย นฤมล และคณะ (2542) ศึกษาการกระจายตัวของตัวอ่อนแมลงกลุ่ม EPT ในลำธารต้นน้ำภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 22 สาย พบระยะตัวเต็มวัย 143 ชนิด ระยะตัวอ่อน 123 ชนิด สามารถเชื่อมโยงระยะตัวเต็มวัยกับตัวอ่อนได้ 15 ชนิด การศึกษาในประเทศแถบเอเชียรวมทั้งประเทศไทยมักสามารถระบุตัวอ่อนได้เพียงระดับวงศ์หรือสกุลเท่านั้น (ศุภฤกษ์, 2538; ยรรยงค์ และคณะ, 2540; นฤมล และวิโรจน์, 2541, Dudgeon, 1994; Watanasit, 1996)

Lenat and Resh (2001) เสนอว่า อนุกรมวิธานระดับวงศ์ (family) เหมาะสมกับการติดตามคุณภาพแหล่งน้ำในแต่ละปีที่มีจำนวนสถานีมาก ๆ การติดตามในกรณีที่มีการแบ่งคุณภาพน้ำเป็น ดี ปานกลาง และน้อย การติดตามคุณภาพน้ำโดยอาสาสมัคร และการสำรวจในบริเวณที่มีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตต่ำ เป็นต้น ต้องใช้ความรู้อนุกรมวิธานระดับสกุล (genus) และชนิด (species) เมื่องานนั้นต้องการผลลัพธ์ที่ให้ความเชื่อมั่นสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพื่อช่วยในการตัดสินใจของผู้มีอำนาจสั่งการ (Rosenberg et al., 1986) การตรวจสอบคุณภาพของแหล่งน้ำที่มีความแตกต่างกันน้อย การแบ่งระดับคุณภาพน้ำที่ละเอียดขึ้น (มากกว่าสามระดับข้างต้น) การวิจัยที่เน้นเกี่ยวกับการอนุรักษ์ การระบุสถานะ (status) ของสิ่งมีชีวิต การหาผลผลิต (productivity) ของสิ่งมีชีวิต พลวัตรประชากร (population dynamic) และการทดสอบความเป็นพิษของสาร (toxicity test) ต่อสิ่งมีชีวิต (Baily et al., 2001) เนื่องจากความรู้อนุกรมวิธานระดับสกุลและชนิดของแมลงน้ำมีความจำเป็น แต่ความรู้นี้ยังไม่เพียงพอในประเทศไทย ดังนั้น กลุ่มผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาความหลากหลาย ความชุกชุม ชีวประวัติ นิเวศวิทยา ปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่กระจายของแมลงน้ำ รวมทั้งการเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนกับระยะตัวเต็มวัยเพื่อให้สามารถระบุชนิดจากระยะตัวอ่อนได้ โดยมีพื้นที่ศึกษาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ 1) อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว ครอบคลุมพื้นที่สองจังหวัด คือ เพชรบูรณ์และชัยภูมิ มีความสูงจากระดับน้ำทะเลเฉลี่ย 800 เมตร สภาพอากาศเย็นตลอดปี อุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 องศาเซลเซียส มีฝนตกราว 7-8 เดือน เริ่มตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงตุลาคม ธรณีสัณฐานของอุทยานเป็นเทือกเขาสูงประกอบด้วยหินชุดราชบุรี กระจายตัว

บริเวณทิศเหนือและทิศใต้ของอุทยาน และหินชุดโคราชกระจายตัวในทิศตะวันออกและทิศตะวันตกของอุทยาน ป่าไม้ในอุทยานเป็นแหล่งกำเนิดต้นน้ำลำธารของแม่น้ำหลายสาย เช่น แม่น้ำปาสัก แม่น้ำพรม แม่น้ำเชิญ และแม่น้ำชี สังคมป่าส่วนใหญ่เป็นป่าดงดิบแล้ง การศึกษาดำเนินการในลำธารสองสายคือ ห้วยพรมแล้ง และห้วยหญ้าเครือ ซึ่งเป็นลำธารที่มีน้ำไหลตลอดทั้งปี และ 2) อุทยานแห่งชาติภูพาน ครอบคลุมพื้นที่จังหวัดสกลนคร และจังหวัดกาฬสินธุ์ มีความสูงจากระดับน้ำทะเลเฉลี่ย 391 เมตร ฤดูฝนเริ่มต้นประมาณเดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม ฤดูหนาวเริ่มประมาณเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ ฤดูร้อนเริ่มประมาณเดือนกุมภาพันธ์ถึงเมษายน อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดปีประมาณ 27 องศาเซลเซียส ธรณีสัณฐานส่วนใหญ่เป็นหินทราย ดินเป็นดินชุดโคราช และชุดภูพาน ได้ศึกษามวนในแหล่งน้ำนิ่ง 13 แหล่ง คือ อ่างเก็บน้ำห้วยหินแตก อ่างเก็บน้ำห้วยวังเรือ อ่างเก็บน้ำห้วยทราย อ่างเก็บน้ำห้วยหอย อ่างเก็บน้ำปรีชาสุขสันต์ อ่างเก็บน้ำห้วยวังถ้ำ อ่างเก็บน้ำภูเพ็ก เขื่อนน้ำพุง อ่างเก็บน้ำบ้านต้อนใหม่ 1 อ่างเก็บน้ำบ้านต้อนใหม่ 2 อ่างเก็บน้ำบ้านต้อนใหม่ 3 อ่างเก็บน้ำห้วยขี้หิน และอ่างเก็บน้ำห้วยแข้ แหล่งน้ำไหล 3 แหล่ง คือ ห้วยเวียนไพร ห้วยพุง และห้วยอูน

## วิธีการ

เก็บตัวอย่างแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Hydropsychidae, Leptoceridae และ Philopotamidae แมลงชีปะขาววงศ์ Leptophlebiidae และวงศ์ Heptageniidae จากทุกแหล่งอาศัยย่อยในห้วยพรมแล้งและห้วยหญ้าเครือ อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว และเก็บระยะตัวเต็มวัยโดยวิธีการขึงผ้าขาวพร้อมเปิดไฟล่อแมลง และการใช้กับดักแสงไฟล่อตลอดคืน เก็บตัวอย่างเดือนละครั้งต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลาประมาณ 12-18 เดือน ตัวอย่างที่ได้นำมาดองด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 และตรวจเอกลักษณ์ ระยะตัวอ่อนระบุถึงระดับสกุล ระยะตัวเต็มวัยระบุชนิด เนื่องจากองค์ความรู้เกี่ยวกับตัวอ่อนแมลงน้ำในทวีปเอเชียยังไม่เพียงพอ ทำให้ไม่สามารถระบุชนิดจากระยะตัวอ่อนได้โดยตรง เพื่อให้สามารถระบุชนิดได้อย่างถูกต้อง ได้ทำการเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนกับระยะตัวเต็มวัย โดยเก็บตัวอ่อนที่โตเต็มที่มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ นำมาแยกเลี้ยงในภาชนะละตัว เพื่อให้เจริญเป็นตัวเต็มวัย และทำการตรวจเอกลักษณ์เพื่อหาชื่อวิทยาศาสตร์ สำหรับแมลงหนอนปลอกน้ำนอกจากการนำระยะตัวอ่อนมาเลี้ยงแล้ว ได้เก็บระยะดักแด้เพื่อเปรียบเทียบอวัยวะสืบพันธุ์ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญในการระบุชนิดของระยะดักแด้และระยะตัวเต็มวัย และเปรียบเทียบคราบตัวอ่อน (exuvia) ของระยะตัวอ่อนที่ยังคงเหลืออยู่ในถุงหุ้มดักแด้กับตัวอ่อนที่โตเต็มที่ ทั้งสองวิธีการนี้ช่วยให้สามารถระบุชนิดของตัวอ่อนได้ เมื่อแยกชนิดของตัวอ่อนได้แล้ว นำตัวอ่อนแต่ละชนิดมาวัดความกว้างของส่วนหัวเพื่อกำหนดขนาดในตัวอ่อนแต่ละระยะ จากนั้นศึกษาแบบแผนชีวประวัติ วิเคราะห์อาหารในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ในบางชนิดได้ทำการทดลองภาคสนามและนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของตัวอ่อนในแต่ละฤดูกาล

สำหรับการศึกษามวนในอุทยานแห่งชาติภูพาน โดยเก็บตัวอย่างมวนในแหล่งน้ำนิ่ง 13 แหล่ง และแหล่งน้ำไหล 3 แหล่ง โดยใช้สวิงเก็บในทุกแหล่งอาศัย เก็บรักษาตัวอย่างในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 จากนั้นนำมาตรวจเอกลักษณ์ถึงระดับชนิด

ก่อนการเก็บตัวอย่างแมลงทุกครั้งได้ศึกษาปัจจัยด้านเคมีฟิสิกส์ของแหล่งน้ำ โดยตรวจวัดความลึก ความกว้าง ความเร็วกระแสน้ำ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ การนำไฟฟ้า ปริมาณของแข็งละลายน้ำ ความเป็นกรด ด่าง อุณหภูมิน้ำ และอุณหภูมิอากาศ รวมทั้งลักษณะองค์ประกอบของพื้นอาศัยในทุกแหล่งน้ำที่ศึกษา เพื่อวิเคราะห์แหล่งอาศัยย่อยและปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายตัวของตัวอ่อน

## ผลการวิจัย

### *แมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Hydropsychidae*

พบระยะตัวเต็มวัย 8 สกุล 16 ชนิด ระยะตัวอ่อนพบ 7 สกุล 9 ชนิด ดังตารางที่ 1 (ศุภลักษณ์, 2542) ห้วยหญ้าเครือมีความหลากชนิดมากกว่าห้วยพรมแล้ง พบแมลงหนอนปลอกน้ำชนิดใหม่จำนวน 1 ชนิด ซึ่งศาสตราจารย์ Hans Malicky และ ดร.พรทิพย์ จันทรมงคล ให้ชื่อว่า *Pseudoleptonema supalak* ตามชื่อนักศึกษาผู้วิจัย แมลงหนอนปลอกน้ำชนิดนี้เป็นชนิดเด่นที่พบมากที่สุดในห้วยพรมแล้ง ตัวอ่อนสร้างรังรูปร่างคล้ายตาข่ายปกคลุมเต็มลานหิน (bed rock) มองดูคล้ายพรม ส่วน *Cheumatopsyche* เป็นสกุลที่พบมากที่สุดในห้วยหญ้าเครือ ตัวเต็ม

วัยของแมลงหนอนปลอกน้ำสกุลนี้พบถึง 4 ชนิด แต่ระยะตัวอ่อนมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมากไม่สามารถแยกจากกันได้ เนื่องจากไม่ประสบความสำเร็จในการนำตัวอ่อนมาเลี้ยงให้ลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยในห้องปฏิบัติการ และดักแด้ที่พบทั้งหมดเป็นเพศเมีย จึงไม่สามารถระบุชนิดของตัวอ่อนในสกุลนี้ได้ สามารถเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนกับตัวเต็มวัยได้ 6 ชนิด คือ *Diplectrona* sp.1, *Hydatomanicus klanklini*, *Hydropsyche* (*Ceratopsyche*) sp.1, *Hydropsyche* (*Ceratopsyche*) sp.2, *Macrostemum fenestratum* และ *Pseudoleptonema supalak* ยกเว้น *Hydropsyche* (*Ceratopsyche*) sp.1 ที่มีข้อมูลไม่เพียงพอ แมลงหนอนปลอกน้ำอีกห้าชนิดที่เหลือสามารถศึกษาแบบแผนชีวประวัติได้ แบบแผนชีวประวัติมีทั้งแบบหนึ่งรุ่นต่อปี univoltine และ non-seasonal แมลงหนอนปลอกน้ำ *Diplectrona* sp.1, *Hyatomanicus klanklini* และ *Hydropsyche* (*Ceratopsyche*) sp.2 มีแบบแผนชีวประวัติเป็นแบบ univoltine ส่วน *Macrostemum fenestratum* และ *Pseudoleptonema supalak* มีแบบแผนชีวประวัติเป็นแบบ non-seasonal ตัวอ่อนทุกชนิดของแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์นี้สร้างรังยึดติดกับพื้นหินในน้ำระดับความลึกประมาณ 10 เซนติเมตร โดยแต่ละชนิดอาศัยอยู่ในแหล่งอาศัยย่อยแตกต่างกัน *P. supalak* สร้างรังบนลานหินและก้อนหินขนาดใหญ่ (boulder) ในบริเวณที่น้ำไหลเร็ว *H. doctersi* อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีน้ำไหลเร็วเช่นกัน แต่รังจะอยู่ที่บริเวณรอยต่อระหว่างลานหินกับก้อนหินขนาดใหญ่ *Hydrosyche* (*Ceratopsyche*) สร้างรังบนลานหินและก้อนหินขนาดใหญ่ในบริเวณน้ำไหลเร็วปานกลางจนถึงค่อนข้างเร็ว *Diplectrona* sp.1 และ *H. klanklina* สร้างรังบนลานหินในบริเวณที่น้ำไหลไม่เร็วนักโดย *Diplectrona* sp.1 อยู่บริเวณที่มีเศษใบไม้ทับถม *Oestropsyche* sp. พบใต้ก้อนหินขนาดใหญ่ ตัวอ่อนชนิดนี้มีขนาดใหญ่มาก ขนาดความยาวของส่วนหัวประมาณ 1.5 มิลลิเมตร ส่วน *M. fenestratum* สร้างรังใต้ก้อนหินขนาดใหญ่ ก้อนหินขนาดกลาง และพบบ้างบริเวณก้อนหินขนาดเล็ก โดยรังฝังลึกลงในทรายบริเวณน้ำไหลช้า ตัวอ่อนได้อาหารโดยการกรอง ลักษณะพื้นลำธารและความเร็วกระแสน้ำเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการกระจายตัวและความชุกชุมของตัวอ่อน ภาวะน้ำหลากเป็นปัจจัยควบคุมประชากรตัวอ่อนแมลงหนอนปลอกน้ำ *Cheumatopsyche*, *Hydropsyche* และ *Macrostemum* ในขณะที่ภาวะน้ำแห้งเป็นปัจจัยควบคุมปริมาณประชากรของ *P. supalak*

ตารางที่ 1. แสดงแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Hydropsychidae ที่พบในในอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว

| ชนิด | ระยะตัวอ่อน | ระยะตัวเต็มวัย | การเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย | ชีวประวัติ |
|---|---|---|---|---|
| *Amphisyche* sp.1 | - | + | - | |
| *Cheumatopsyche charites* | - | + | - | |
| *C. chrysothemis* | - | + | - | |
| *C. copia* | - | + | - | |
| *C. globosa* | - | + | - | |
| *Diplectrona* sp.1 | + | + | ✓ | univoltine |
| *Hydatomanicus chattrakan* | - | + | - | |
| *H. klanklini* | + | + | ✓ | univoltine |
| *H. seubabel* | - | + | - | |
| *Hydropsyche doctersi* | + | - | - | |
| *Hydropsyche(Ceratosyche)* sp.1 | + | + | ✓ | |
| *Hydropsyche(Ceratosyche)* sp.2 | + | + | ✓ | univoltine |
| *Macrostemum dohrni* | + | + | - | |
| *M. floridum* | - | + | - | |
| *M. midas* | - | + | - | |
| *M. fenestratum* | + | + | ✓ | non-seasonal |
| *Oestropsyche* sp. | + | - | - | |
| *Pseudoleptonema supalak* | + | + | ✓ | non-seasonal |

หมายเหตุ: + = พบ, - = ไม่พบ และ ✓ = สามารถเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยได้สำเร็จ

***แมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Leptoceridae***

พบตัวเต็มวัยแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์นี้จำนวน 6 สกุล 11 ชนิด ระยะตัวอ่อนพบ 5 สกุล 8 ชนิด (ตารางที่ 2) ไม่ประสบความสำเร็จในการเลี้ยงตัวอ่อนในห้องปฏิบัติการ ห้วยพรมแล้งมีความหลากหลายมากกว่าห้วยหญ้าเครือ ชนิดที่พบมากในห้วยพรมแล้ง คือ *Setodes* sp.1 ส่วนห้วยหญ้าเครือพบตัวอ่อนของ *Leptocerus* sp.1 และตัวเต็มวัยของ *Ceraclea* มากที่สุด เฉพาะแมลงหนอนปลอกน้ำ *Setodes* sp.1 และ *Leptocerus* sp.1 มีข้อมูลเพียงพอสำหรับการศึกษาแบบแผนชีวประวัติ ทั้งสองชนิดมีแบบแผนชีวประวัติแบบ non-seasonal ตัวอ่อนของแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์นี้อยู่ในแหล่งอาศัยย่อยแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของตัวอ่อนและการกระจายของวัสดุที่สะสมในแหล่งน้ำ ได้แก่ กองเศษซากใบไม้ รากพืช และใต้ก้อนหินขนาดกลางและก้อนหินขนาดเล็กในบริเวณน้ำไหลไม่แรงนัก ตัวอ่อนวงศ์นี้บริโภคซากอินทรีย์และพืชเป็นอาหารโดยการเก็บกิน (gathering collectors) มีแมลงหนอนปลอกน้ำที่อาจเป็นชนิดใหม่ของโลก 3 ชนิดอยู่ในสกุล *Ceraclea* และ *Setodes* ซึ่งต้องรอผลการศึกษาเพื่อยืนยันต่อไป (ประสาท, 2544)

ตารางที่ 2. แมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Leptoceridae ที่พบในอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว

| ชนิด | ระยะตัวอ่อน | ระยะตัวเต็มวัย | การเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย | ชีวประวัติ |
|---|---|---|---|---|
| *Adicella capitata* | - | + | - | |
| *Adicella dryope* | - | + | - | |
| *Adicella* sp.1 | + | | - | |
| *Adicella* sp.2 | + | | - | |
| *Athripsodes* sp.1 | + | | - | |
| *Ceraclea* sp.1 | - | + | - | |
| *Ceraclea* sp.2 | | + | - | |
| *Leptocerus chatadalaja* | - | + | - | |
| *Leptocerus* sp.1 | + | - | - | non-seasonal |
| *Leptocerus* sp.2 | + | - | - | non-seasonal |
| *Oecetis biramosa* | - | + | - | |
| *Oecetis evirga* | - | + | - | |
| *Oecetis meghadouta* | - | + | - | |
| *Oecetis* sp.1 | + | - | - | |
| *Oecetis* sp.2 | + | - | - | non-seasonal |
| *Setodes alampata* | - | + | - | |
| *Setodes* sp.1 | + | + | - | |
| *Triaenodes pellectus* | | + | - | |

หมายเหตุ: + = พบ, - = ไม่พบ

***แมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Philopotamidae***

พบตัวเต็มวัยแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์นี้ 1 สกุล คือ *Chimarra* จำนวน 5 ชนิด ระยะตัวอ่อนพบ 2 ชนิด คือ สกุล *Chimarra* พบ 5 ชนิด และ *Wormaldia* 1 ชนิด (ตารางที่ 3) สามารถเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนกับระยะตัวเต็มวัยได้สำเร็จ 2 ชนิด คือ *C. akkaorum* และ *C. khamuorum* ชนิดแรกมีแนวโน้มของชีวประวัติแบบ univoltine ส่วนชนิดหลังมีแบบแผนแบบ non-seasonal ตัวอ่อนสร้างรังลักษณะคล้ายถุงกาแฟอยู่ใต้เศษซากใบไม้ในบริเวณที่น้ำไหล ตาข่ายของตัวอ่อนแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้งขนาดและการเรียงตัวของตาข่าย ตาข่ายของ *C. akkaorum* เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ขนาดช่องตาข่ายเล็กกว่าของ *C. khamuorum* ที่มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้าและมีการเรียงตัวเป็นระเบียบมากกว่า ตัวอ่อนได้รับอาหารโดยการกรอง (filtering collector) อาหารกว่าร้อยละ 90 เป็นพวกซากอินทรีย์ ที่เหลือเป็นสาหร่ายและไดอะตอม *C. akkaorum* บริโภคไดอะตอมขนาดเล็กกว่าและชนิดของไดอะตอมต่างจาก *C. khamuorum* ส่วนไดอะตอมที่พบในทางเดินอาหาร*ของ Wormaldia* มีชนิดที่แตกต่างจาก *Chimarra* ความลึกและความเร็วของน้ำมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความชุกชุมของตัวอ่อน (r=0.60, p=0.003 และ r=0.751, p=0.002 ตามลำดับ) ปกติพบตัว

อ่อนอาศัยอยู่ในระดับน้ำลึกไม่เกิน 20 เซนติเมตร *C. akkaorum* อยู่ในน้ำที่มีความลึกมากกว่าและกระแสน้ำไหลเร็วกว่า *C. khamuorum* ส่วนตัวอ่อนของ *Wormaldia* อาศัยในระดับน้ำที่ตื้นกว่าและกระแสน้ำไหลช้ากว่า *Chimarra*

ตารางที่ 3. แมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Philopotamidae ที่พบในอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว

| ชนิด | ระยะตัวอ่อน | ระยะตัวเต็มวัย | การเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย | ชีวประวัติ |
|---|---|---|---|---|
| *Chimarra akkaorum* | + | + | ✓ | non-seasonal |
| *C. bimbltona* | - | + | - | |
| *C. khamuorum* | + | + | ✓ | non-seasonal |
| *C. pipake* | - | + | - | |
| *C. spinifera* | - | + | - | |
| *Chimarra* sp.1 | + | - | - | |
| *Chimarra* sp.2 | + | - | - | |
| *Chimarra* sp.3 | + | - | - | |
| *Wormaldia* sp. | + | - | - | |

หมายเหตุ: + = พบ, - = ไม่พบ และ ✓ = สามารถเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยได้สำเร็จ)

***แมลงชีปะขาววงศ์ Leptophlebiidae***

พบตัวเต็มวัยของแมลงชีปะขาววงศ์นี้ 6 สกุล 8 ชนิด ตัวอ่อนพบ 5 สกุล 9 ชนิด (ตารางที่ 4) *Choroterpes* (Euthraulus) sp.1 และ *Cryptopenella* sp. มีความชุกชุมมากในทั้งสองลำธาร สามารถเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนกับระยะตัวเต็มวัยโดยการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ 3 ชนิด คือ *Choroterpes* (*Euthraulus*) sp.1, *Cryptopenella* sp. และ *Choroterpides* sp. แมลงชีปะขาวทั้งสามชนิดนี้รวมทั้ง *Choroterpes* sp.2 มีชีวประวัติแบบ non-seasonal และตัวเต็มวัยบินเกือบตลอดปี ตัวอ่อนอาศัยอยู่ในแหล่งอาศัยย่อยแตกต่างกัน ส่วนมากชอบอาศัยอยู่บริเวณก้อนหินที่มีขนาดใหญ่มาก (boulder) และหินขนาดกลาง (cobble)

ตารางที่ 4. แมลงแมลงชีปะขาววงศ์ Leptophlebiidae ที่พบในอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว

| ชนิด | ระยะตัวอ่อน | ระยะตัวเต็มวัย | การเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย | ชีวประวัติ |
|---|---|---|---|---|
| *Choroterpes (Choroterpes) proba* | + | - | - | |
| *Choroterpes (Euthraulus)* sp.1 | + | + | ✓ | non-seasonal |
| *Choroterpes (Euthraulus)* sp.2 | + | + | - | |
| *Choroterpes (Euthraulus)* sp.3 | + | + | - | |
| *Choroterpides* sp. | + | + | ✓ | non-seasonal |
| *Cryptopenella* sp. | + | + | ✓ | non-seasonal |
| *Habrophlebiodes* sp. | - | + | - | |
| *Isca* sp. | | | - | |
| *Simothraulus eminiger* | - | + | - | |
| *Thraulus* sp.1 | + | + | - | |
| *Thraulus* sp.2 | + | - | - | |

หมายเหตุ: + = พบ, - = ไม่พบ และ ✓ = สามารถเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยได้สำเร็จ)

จำนวนตัวมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับขนาดก้อนหิน (r=0.695, p=0.01) ตัวอ่อนของ *Choroterpes* และ *Cryptopenella* sp. บริโภคซากอินทรีย์ สาหร่ายและไดอะตอม โดยการเก็บกิน (gathering collector) แต่ชนิดและปริมาณของไดอะตอมที่ตัวอ่อนแต่ละชนิดบริโภคแตกต่างกัน ตัวอ่อนระยะที่ 5-9 ของ *Choroterpes* บริโภคซากอินทรีย์ในปริมาณที่ไม่แตกต่างจากสาหร่ายและไดอะตอม แต่ตัวอ่อนระยะท้าย ๆ ของ *Cryptopenella* บริโภคซากอินทรีย์เพิ่มมากขึ้นกว่าตัวอ่อนระยะต้น

***แมลงชีปะขาววงศ์ Heptageniidae***

พบระยะตัวอ่อน 4 สกุล 5 ชนิด คือ *Asionurus* sp., *Cinygmina* sp.1, *Cinygmina* sp.2, *Rhithroginiella* และ *Thalerosphyrus* sp. ยกเว้น *Cinygmina* sp.2 ซึ่งไม่พบระยะตัวเต็มวัย อีก 4 ชนิด พบระยะตัวเต็มวัย และสามารถเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนกับตัวเต็มวัยได้สำเร็จจากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 5) ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของ *Cinygmina* sp.1 มีความชุกชุมมากที่สุดในทั้งสองลำธาร รองลงมา คือ *Thalerosphyrus* sp. ตัวอ่อนของแมลงชีปะขาวทั้งสองชนิดนี้มักพบอาศัยร่วมกัน แต่ *Cinygmina* sp.1 มีการกระจายที่กว้างกว่า พบมากบริเวณก้อนหินขนาดกลาง *Rhithrogienella* sp. อาศัยอยู่ในพื้นทรายและใต้ก้อนหินขนาดเล็กบริเวณน้ำไหลช้า ส่วน *Asionurus* sp. ชอบซ่อนตัวอยู่ใต้กองเศษซากใบไม้บริเวณน้ำไหล โดยมักพบอยู่ร่วมกับตัวอ่อนแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Philopotamidae *Cinygmina* sp.1 มีแนวโน้มชีวประวัติแบบ non-seasonal multivoltine

ตารางที่ 5. แมลงแมลงชีปะขาววงศ์ Heptageniidae ที่พบในอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว

| ชนิด | ระยะตัวอ่อน | ระยะตัวเต็มวัย | การเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย | ชีวประวัติ |
|---|---|---|---|---|
| *Asionurus* sp. | + | + | ✓ | |
| *Cinygnima* sp.1 | + | + | ✓ | non-seasonal multivoltine |
| *Cinygnima* sp.2 | + | - | - | |
| *Rhithrogeniella* sp. | + | + | ✓ | |
| *Thalerosphyrus* sp. | + | + | ✓ | |

หมายเหตุ: + = พบ, - = ไม่พบ และ ✓ = สามารถเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยได้สำเร็จ

***มวนน้ำจืด***

การเปรียบเทียบความหลากชนิดของมวนน้ำจืดในแหล่งน้ำนิ่งและแหล่งน้ำไหล ในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2541 ถึงเดือนมิถุนายน 2542 พบมวนน้ำจืดทั้งหมด 11 วงศ์ 37 สกุล 44 ชนิด โดยแหล่งน้ำนิ่งพบ 11 วงศ์ 25 สกุล 28 ชนิด ส่วนแหล่งน้ำไหลพบ 9 วงศ์ 25 สกุล 30 ชนิด (ตารางที่ 6) ชนิดของมวนน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำทั้งสองมีความแตกต่างกันมากถึง 18 ชนิด มวนที่พบมากที่สุดในแหล่งน้ำนิ่งคือ *Rhyacobates imadatei* และ *Chenevelia stridulans* มากที่สุด ส่วนแหล่งน้ำไหลพบ *Limnometra matsudai* มากที่สุด นอกจากนี้ยังพบมวนในสกุล Veliidae ชนิด *Chenevelia stridulans* ในอ่างเก็บน้ำน้ำพุง ซึ่งมีการรายงานโดย Zettel ในปี 1996 ว่าพบเฉพาะที่จังหวัดแม่ฮ่องสอนและแพร่เท่านั้น และพบตัวอ่อนมวนน้ำจืดชนิดที่อาศัยเฉพาะในแหล่งน้ำไหลในอ่างเก็บน้ำห้วยหอย ซึ่งเป็นแหล่งน้ำนิ่งด้วย คือ *Rhagadotarsus* sp.

ตารางที่ 6. มวนน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำนิ่งและแหล่งน้ำไหล อุทยานแห่งชาติภูพาน

| วงศ์ | ชนิด | แหล่งน้ำนิ่ง | แหล่งน้ำไหล |
|---|---|---|---|
| Belostomatidae | *Sphaerodema* sp. | + | - |
| Gerridae | *Amemboa* sp. | + | - |
| | *Cryptobates* sp. | + | - |
| | *Cylindrostethus* sp. | + | - |
| | *Limnogonus* sp. | - | + |
| | *Limnogonoides* sp. | - | + |
| | *Neogerris* sp. | + | - |
| | *Metrocoris* sp. | + | - |
| | *Metrocoris nigrofasciatus* | + | + |
| | *Onychotrechus* sp. | + | - |
| | *Ptilomera turberculatus* | + | - |
| | *Rheumatogonus* sp. | + | + |
| | *Rhyacobates imadatei* | + | - |
| | *Ventridius* sp. | - | + |
| Hebridae | *Merragata sp.* | + | - |
| Helotrephidae | *Distotrephes sp.* | + | + |
| | *Idiotrephes sp.* | - | + |
| Hydrometridae | *Hydrometra* sp. | + | + |

ตารางที่ 6. (ต่อ)

| วงศ์ | ชนิด | แหล่งน้ำนิ่ง | แหล่งน้ำไหล |
|---|---|---|---|
| Mesoveliidae | *Mesovelia* sp. | + | + |
| Micronectidae | *Micronecta* sp. | + | - |
| | *Micronecta* sp.1 | - | + |
| | *Micronecta* sp.2 | - | + |
| | *Micronecta* sp.2\3 | - | + |
| | *Micronecta (Pardanecta) haliploides* sp. | + | - |
| | *Micronecta (Sigmonecta) quadristrigata* | + | - |
| | *Synaptonecta issa* | + | - |
| Naucoridae | *Ctenipocoris* sp. | + | + |
| Nepidae | *Austronepa* sp. | + | - |
| | *Cercotmetus* sp. | - | + |
| | *Cercotmetus asiatious* | + | - |
| | *Cercotmetus brevipes* | + | - |
| | *Leccotrephes* sp | - | + |
| | *Ranatra* sp. | - | + |
| Notonectidae | *Anisops* sp. | + | - |
| | *Aphelonecta* sp. | - | + |
| | *Nychia* sp. | + | + |
| | *Walambianisops* sp. | + | + |
| Veliidae | *Chenevelia stridulans* | + | - |
| | *Microvelia* sp. | + | - |
| | *Lathriovelia* sp. | - | + |
| | *Microvelia* sp. | - | + |
| | *Perittopus* sp. | - | + |
| | *Strongylovelia* sp.1 | - | + |
| | *Strongylovelia* sp.2 | - | + |
| | *Strongylovelia* sp.3 | - | + |

หมายเหตุ: + = พบ และ - = ไม่พบ

## บทสรุป

นอกเหนือจากความหลากหลายของกลุ่มแมลงน้ำที่สามารถระบุชนิดได้ในระยะตัวเต็มวัย (ซึ่งในบางชนิดยังต้องรอการยืนยันความถูกต้องของชื่อวิทยาศาสตร์จากผู้เชี่ยวชาญต่างประเทศ) ความพยายามแก้ปัญหาการระบุชนิดในระยะตัวอ่อนโดยการเชื่อมโยงระยะตัวอ่อนกับระยะตัวเต็มวัยด้วยการนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ทำได้สำเร็จในขั้นหนึ่งเท่านั้น เนื่องจากตัวอ่อนและดักแด้ที่นำมาเลี้ยงมักตายก่อนการลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย เพราะไม่สามารถควบคุมปัจจัยที่สำคัญ 2 ประการได้ คือ ความเร็วกระแสน้ำ และอุณหภูมิน้ำ หากสามารถควบคุมปัจจัยดังกล่าวได้ การนำมาเลี้ยงจะประสบความสำเร็จมากขึ้น ข้อจำกัดนี้ทำให้ผลการศึกษาพบระยะตัวเต็มวัยมากกว่าระยะตัวอ่อน อย่างไรก็ตามได้วาดภาพและบรรยายลักษณะของทุกระยะไว้ ซึ่งทำให้ง่ายในการศึกษาต่อและการสร้างรูปวิธานในอนาคต ส่วนการที่พบระยะตัวเต็มวัยแต่ไม่พบระยะตัวอ่อนของชนิดเดียวกันในบริเวณที่ศึกษา คาดว่าเป็นตัวเต็มวัยที่บินมาจากแหล่งน้ำอื่นในบริเวณใกล้เคียงเนื่องจากตัวเต็มวัยสามารถบินได้ไกล (Nishimura, 1959) แต่ระยะตัวอ่อนเคลื่อนที่ได้น้อยมาก (Rosenberg and Resh, 1993) แมลงบางชนิดพบระยะตัวอ่อนที่มีจำนวนน้อยมากทำให้โอกาสพบตัวเต็มวัยน้อย บางชนิดจึงไม่พบตัวเต็มวัย เช่น แมลงหนอนปลอกน้ำ *Wormaldia*

ชนิดและการแพร่กระจายของตัวอ่อนแมลงน้ำที่ศึกษาแตกต่างกันในแหล่งอาศัยย่อยแสดงถึง habitat partitioning และที่อยู่ในที่อาศัยย่อยเดียวกันมีการบริโภคอาหารแตกต่างกันแสดงถึง food partitioning ซึ่งทำให้ตัวอ่อนแมลงเหล่านี้อาศัยอยู่ในลำธารเดียวกันได้ (coexistence) ชนิดและจำนวนตัวของตัวอ่อนเปลี่ยนแปลงเมื่อสภาพของลำธารเปลี่ยนแปลงไป เช่น กรณีของแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Hydropsychidae ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าบางชนิดมีจำนวนเพิ่มขึ้น และบางชนิดมีจำนวนลดลงหลังการสร้างฝายขนาดเล็กในอุทยาน

การศึกษาความหลากหลายและการกระจายตัวในพื้นที่กว้างจะทำให้ทราบสถานภาพของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด มีชนิดใหม่หรือไม่ ชนิดใดมีการกระจายแคบหรือเป็นสิ่งมีชีวิตที่พบเฉพาะถิ่น เช่น การศึกษาการกระจายของแมลงหนอนปลอกน้ำในลำธาร 33 สาย ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบว่า แมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Stenopsychidae มีการ

กระจายตัวที่จำกัดในภาคนี้ โดยพบเฉพาะในห้วยพรมแล้งเขตอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว (นฤมล และวิโรจน์, 2541; ทัศนีย์ และคณะ, 2542; นฤมล และคณะ, 2542 และ Sangpradub et al., 1998) นิศารัตน์ (2544) ได้ศึกษาพบว่า ลักษณะของพื้นอาศัย ความลึก และความเร็วของกระแสน้ำเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการกระจายตัวของตัวอ่อนแมลงหนอนปลอกน้ำชนิดนี้ การพบแมลงหนอนปลอกน้ำ *S. siamensis* มีการกระจายตัวที่จำกัด และการพบแมลงหนอนปลอกน้ำ *P. supalak* เป็นชนิดเด่น และมี type specimen ที่ได้จากห้วยพรมแล้ง แมลงทั้งสองชนิดนี้เรียกได้ว่าเป็น flag ship species ซึ่งหากมีการจัดการที่ดีสามารถเป็นแหล่งดึงดูดนักท่องเที่ยว และผู้สนใจในธรรมชาติได้ ในขณะเดียวกันหากจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของลำธารควรพิจารณาด้วยความระมัดระวัง เพราะบริเวณนี้ถือว่าเป็นแหล่งพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่หายาก มีการกระจายเฉพาะที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (กรณีของ *Stenopsyche*) จากผลการศึกษาที่พบว่าสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินซึ่งส่วนมากเป็นตัวอ่อนแมลงน้ำ สามารถแสดงถึงผลกระทบอันเกิดจากการแผ้วถางป่าได้ (จันดา, 2541) และนำมาใช้เป็นข้อมูลร่วมในการจัดการพื้นที่ป่าไม้ได้ หรือการศึกษาผลของการเลี้ยงปลาในกระชังที่มีต่อชุมชนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดิน (บุญเสฐียร, 2541) ทำให้ทราบว่าควรเว้นระยะห่างของกระชังอย่างน้อยเท่าใดจึงจะเกิดผลกระทบน้อยที่สุด และควรเว้นระยะการเลี้ยง คือ มีช่วงพักเพื่อให้สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินมีการฟื้นตัว ช่วยทำลายซากอินทรีย์ที่ทับถมในตะกอนบริเวณกระชังปลา ทำให้คุณภาพน้ำดีขึ้นก่อนการเลี้ยงรุ่นใหม่ รวมทั้งการพบว่าตัวอ่อนแมลงน้ำบางวงศ์เป็นสัตว์กลุ่มแรกๆ ที่สามารถกลับมาอยู่ที่เดิมบริเวณกระชังปลาหลังจากที่น้ำมีคุณภาพดีขึ้น อาจเป็นดัชนีบ่งชี้การฟื้นตัวของคุณภาพน้ำได้ และจากผลการศึกษาที่พบว่าสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินมีความสัมพันธ์กับคุณภาพสิ่งแวดล้อมของแหล่งน้ำมาก (นฤมล และคณะ, 2541; Sangpradub et al., 1998) เมื่อเกิดเหตุการณ์ปลาในกระชังของเกษตรกรและปลาธรรมชาติในแม่น้ำพองเมื่อวันที่ 4 ธันวาคม 2540 จากการสำรวจสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินควบคู่กับการตรวจวัดทางเคมีฟิสิกส์หลังจากเหตุการณ์ปลาตายไปแล้ว 4 วัน พบว่าในสถานีต่าง ๆ เหนือบริเวณร้องเรียนยังคงพบตัวอ่อนแมลงชีปะขาวและตัวอ่อนแมลงหนอนปลอกน้ำ แต่จากบริเวณที่ร้องเรียนไปทางท้ายน้ำ ไม่พบตัวอ่อนของสัตว์ทั้งสองอันดับนี้เลย (กรมอนามัย, 2540) ทั้งที่ข้อมูลการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่าบริเวณดังกล่าวเหล่านี้มีตัวอ่อนแมลงทั้งสองอันดับอาศัยอยู่ (Sangpradub et al., 1998) ซึ่งช่วยยืนยันถึงการปนเปื้อนที่เกิดขึ้น และจากการสำรวจในปี พ.ศ. 2541 จนถึงปัจจุบันยังคงพบสัตว์เหล่านี้อยู่ ปัจจุบันอาสาสมัครสิ่งแวดล้อมในลุ่มน้ำพองได้เฝ้าระวังคุณภาพน้ำเบื้องต้น ด้วยการสำรวจสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินร่วมกับการตรวจวัดทางเคมี ผลการศึกษาวิจัยดังกล่าวเป็นตัวอย่างของการนำความรู้ด้านแมลงน้ำมาใช้ประโยชน์ การศึกษามีข้อจำกัด คือ การตรวจเอกลักษณ์ทำได้ถึงระดับสกุลเป็นส่วนมาก แมลงน้ำบางวงศ์มีการกระจายกว้างมาก สามารถอาศัยอยู่ได้ในแหล่งน้ำที่มีคุณภาพดีจนถึงคุณภาพพอใช้ หากมีความรู้อนุกรมวิธานที่ดีจะทำให้สามารถแยกได้ว่าชนิดใดอยู่ในน้ำคุณภาพเช่นไร ซึ่งทำให้การวิเคราะห์ผลได้ละเอียดยิ่งขึ้น ดังนั้นการศึกษาวิจัยด้านอนุกรมวิธาน ด้านชีววิทยา และด้านนิเวศวิทยาของแมลงน้ำจึงยังคงมีความจำเป็นสำหรับประเทศไทย เพราะให้ความถูกต้องเกี่ยวกับชนิด และเป็นข้อมูลพื้นฐานจำเป็นที่สามารถอธิบายปรากฏการณ์ต่าง ๆ ได้ ในขณะที่การศึกษาวิจัยเชิงประยุกต์จะทำให้นำไปใช้ประโยชน์ได้ ดังนั้นควรมีการศึกษาวิจัยทั้งสองแบบควบคู่กัน แนวทางการศึกษาวิจัยในอนาคตควรวิจัยบทบาทเชิงนิเวศวิทยาของแมลงเหล่านี้ เช่น การสลายซากอินทรีย์ ผลกระทบจากการท่องเที่ยว หรือกิจกรรมอื่น ๆ การฟื้นตัวหลังการรบกวน รวมทั้งวิธีการนำมาใช้ในการเฝ้าระวังคุณภาพสิ่งแวดล้อม การทำนายว่าในบริเวณนั้น ๆ ควรพบสัตว์อะไรบ้างหากไม่พบแสดงว่ามีการรบกวนเกิดขึ้น เป็นต้น

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และขอขอบคุณหัวหน้าอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว และอุทยานแห่งชาติภูพานที่กรุณาอนุญาตให้เข้าศึกษาในอุทยาน

## เอกสารอ้างอิง


กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2540. รายงานฉบับสมบูรณ์ ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำและตะกอนท้องน้ำ เนื่องมาจากกรณีเหตุการณ์ปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ ตายในแม่น้ำพอง ในวันที่ 4 ธันวาคม 2540.

จันดา วงษ์สมบัติ. 2541. ผลกระทบของการถางป่าริมฝั่งลำธารต่อโครงสร้างชุมชนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินในแหล่งน้ำจืด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ทัศนีย์ แจ่มจรรยา, ละออศรี เสนาะเมือง, นฤมล แสงประดับ, ปรียะวุฒิ วัชรานนท์, พรพิมล เจียระไนปรีเปรม, องุ่น ลิ่ววาณิช, ชุติมา หาญจวณิช, สมพงษ์ สิทธิพรหม และสุวคนธ์ พลกนิษฐ์. 2542. การศึกษาความหลากหลายทางสัตววิทยาในอุทยานแห่งชาติภูพาน. รายงานประจำปีในโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย.

นฤมล แสงประดับ และวิโรจน์ หนักแน่น. 2541. การศึกษาเบื้องต้นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินในลำห้วยหญ้าเครือและลำห้วยพรมแล้ง อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว. วารสารวิจัย มข. 3(1): 1-15.

นฤมล แสงประดับ, ยรรยงค์ อินทร์ม่วง, ชุติมา หาญจวณิช และอุไรวรรณ อินทร์ม่วง. 2541. ดัชนีชีวภาพสำหรับการจัดจำแนกคุณภาพน้ำทางชีววิทยาในลุ่มน้ำพองด้วยสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดิน. ว. วิทย มข. 26(4): 289-304.

นฤมล แสงประดับ, ยรรยงค์ อินทร์ม่วง, ชุติมา หาญจวณิช, อาษา อาษาไชย และประยุทธิ์ อุดรพิมาย. 2542. การศึกษาการกระจายตัวแมลงกลุ่ม Ephemeroptera, Plecoptera และ Trichoptera (EPT) ในลำธารต้นน้ำภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. รายงานการวิจัย โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย.

นิศารัตน์ คล้ายทอง. 2544. ชีววิทยาของตัวอ่อนแมลงหนอนปลอกน้ำชนิด Stenopsyche siamensis (Insecta: Trichoptera). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุญเสฐียร บุญสูง. 2541. ผลกระทบของการเลี้ยงปลาในกระชังต่อชุมชนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินในแหล่งน้ำจืด. โครงงานวิจัยระดับปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ประสาท เนืองเฉลิม. 2544. ความหลากชนิดของแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Leptoceridae ในลำธารห้วยหญ้าเครือ และห้วยพรมแล้ง อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ยรรยงค์ อินทร์ม่วง, นฤมล แสงประดับ และอุไรวรรณ อินทร์ม่วง. 2540. การตรวจสอบคุณภาพน้ำแม่น้ำแบบใหม่ โดยใช้ดัชนีร่วมทางฟิสิกส์ เคมี และชีววิทยา. วารสารการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม. 20: 15-30.

ศุภฤกษ์ วัฒนสิทธิ์. 2538. การสำรวจแมลงบริเวณป่าพรุของจังหวัดภูเก็ต. วารสารสงขลานครินทร์. 17(3): 299-311.

ศุภลักษณ์ ระดมสุข. 2542. ความหลากชนิดของแมลงหนอนปลอกน้ำวงศ์ Hydropsychidae บริเวณห้วยพรมแล้ง และห้วยหญ้าเครือ อุทยานแห่งชาตินำหนาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Baily, R.C., R.H. Norris and T.B. Reynoldson. 2001. Taxonomic Resolution of Benthic Macroinvertebrate Communities in Bioassessments. *Journal of the North American Benthological Society* 20(2): 280-286.

Brown, A. and K. Brown. 1984. Distribution of Insects within Riffles of Streams. *Freshwater Invertebrates Biology* 3(1): 2-11.

Campbell, I.C. 1982. Biological Water Quality Monitoring: An Australian Viewpoint. Pages 39-66. *In* Hart, B.T. (ed), Water Quality Management. Monitoring Programs and Diffuse Runoff. Water Studies Centre, Chisholm Institute of Technology and Australian Society for Limnology, Melbourn.

Chessman, B.C. 1995. Rapid Assessment of River Using Macroinvertebrates: A Procedure Based on Habitat-Specific Sampling, Family Level Identification and Biotic Index. *Australian Journal of Ecology* 20: 122-129.

Chutter, F.M. 1972. An Empirical Biotic Index of the Quality of Water in South Africa Streams and Rivers. *Water Research* 6: 19-30.

De Pauw, N. and G. Vanhooren. 1983. Method for Biological Quality Assessment of Watercourses in Belgium. *Hydrobiologia* 100: 153-168.

De Zwart, D. and R.C. Trivedi. 1994. Manual on Integrated water Quality Evaluation. Report 802023003. National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), Bilthoven, The Netherlands.

Dudgeon, D. 1994. Tropical Asian Streams. Hong Kong University Press, Hong Kong University Ptress, Hong Kong.

Edward, R., J. Mayer and S. Findley. 1990. The Relative Contribution of Benthic and Suspended Bacteria to System Biomass, Production, and Metabolism in a Low-Gradient Black-water River. *Journal of the North American Benthological Society* 9(3): 216-228.

Hawkins, C.P. and M.R. Vinsons. 2000. Weak Correspondence between Landscape Classification and Stream Invertebrate Assemblages: Implications for Bioassessment. *Journal of the North American Benthological Society* 19 (3): 501-517.

Hawkins, C.P., R.H. Norris, J. Gerritsen, R.M. Hughes, S.K. Jackson, R.K. Johnson and R.J. Stevenson. 2000. Evaluation of the Use of Landscape Classifications for the Prediction of Freshwater Biota: Synthesis and Recommendations. *Journal of the North American Benthological Society* 19 (3): 541-556.

Hawkins. C.P. and R.H. Norris. 2000. Performance of Different Landscape Classifications for Aquatic Bioassessments: Introduction to Series). *Journal of the North American Benthological Society*. 19 (3): 367-369.

Hellawell, J.M. 1986. Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management, Elsevier Applied Science Publishers, London.

Hellawell, J.M. 1989. Biological Indicator of Freshwater Pollution and Environmental Management. Elsevier Applied Science, London.

Hynes, H.B.N. 1984. Taxonomy and Ecology. *In* Resh, V.H. and Rosenberg, D.M. (eds), The Ecology of Aquatic Insects. Praeger Publishers, New York. p. 2-23.

Kolkwitz, R. and M. Marsson. 1908. Ökologie der Pflanzlichen Saprobien. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 26: 505-519.

Kolkwitz, R. and M. Marsson. 1909. Ökologie der Tierischen Saprobien. Beitrage zur Lehre von des Biologischen Gewassbeurteilung. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 2: 126-152.

Lemly A.D. 1998. Bacterial Growth on Stream Insects: Potential for Use in Bioassessment. *Journal of the North American Benthological Society* 17: 228-238.

Lenat, D.R. and V.H Resh. 2001. Taxonomy and Stream Ecology-The Benefits of Genus and Species-Level Indentifications. *Journal of the North American Benthological So*ciety 20(2): 287-298.

Malicky, H. and P. Chantaramongkol. 1999. A Preliminary Survey of the Caddisflies (Trichoptera) of Thailand. *Proceedings of the 9th International Symposium on Trichoptera 1998. Chiang Mai*, 205-216.

Merrit, R.W. and K.W Cummin. 1984. An Introduction to the Aquatic Insects of North America, 2nd ed., Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa.

Mustow, S.E. 1997. Aquatic Macroinvertebrates and Environmental Quality of River in Northern Thailand. Unplubished Ph.D. Thesis. University of London.

National Water Council. 1981. River Quality; the 1980 Survey and Futue Outlook. National Water Council, London.

Nishimura, N. 1959. On the Flighting of a Caddisfly, Stenopsyche griseipennis Malachlan. *The Insect Ecology* 7(3): 140-144.

Plafkin, J.L., M.T. Barbour, K.D. Poter, S.K. Gross and R.M. Hughes. 1989. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Rivers. Benthic Macroinvertebrates and Fish. EPA/444/4-*89-001*. Office of water Regulations and Standards, US Environmental Protection Agency, Washington, DC.

Resh, V.H. and J.H Jackson. 1993. Rapid Assessment Approaches to Biomonitoring Using Benthic Macroinvertebrates. Pages 195-233. In Rosenberg, D.M. and Resh, V.H. (eds), Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. Chapman & Hall, New York.

Rosenberg, D.M. and V.H. Resh. 1993. F0reshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates. Chapman & Hall, New York.

Rosenberg, D.M., H.V. Dank and D.H. Lehmkuhl. 1986. Importance of Insects in Environmental Impact Assessment. *Environmenal Management* 10: 773-783.

Rundel, S.D., A. Jenkins and S.I. Ormerod. 1993. Macroinvertebrate Communities in Streams in Himalaya, Nepal, *Freshwater Biology* 30: 169-180.

Sangpradub, N., Y. Inmuong, C. Hanjavanit and U. Inmuong. 1998. A Correlation Study between Freshwater Benthic Macroinvertebrate Fauna and Environtal Quality Factors in Nam Pong Basin Thailand. A Research Report to the Thailand Research Fund.

UNEP, WHO, UNESCO and WMO. 1992. GEMS/WATER operational Guide, WHO Collaborating for Surface and Ground Water Quality. National Water Research Institute, Canada Center for Inland Waterss, Burlington, Ontario, Canada.

Wattanasit, S. 1996. Aquatic Insects in Southern Province of Thailand. *Songklanakarin Journal Science Technology* 18: 385-396.

# ประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่และวิธีเก็บตัวอย่างที่เหมาะสมบริเวณตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน ภาคใต้ของประเทศไทย

**เสาวภา อังสุภานิช[1], อำนาจ ศิริเพชร[1] และมงคลรัตน์ เจริญพรทิพย์[2]**

[1]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ สงขลา 90112

[2]คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ สงขลา 90112

**Abstract: Macrobenthic Fauna Community and Optimum Sampling Protocol for the Lower Part of Inner Songkhla Lake, Southern Thailand**

The aims of the investigation were to determine the species diversity and abundance, and the optimum sampling protocol for macrobenthic fauna at the lower part of the Inner Songkhla Lake. The study was conducted from February 1999. A total of seven phyla and 59 species (excluding polychaete larvae) were identified: Annelida (58 species), Crustacea (56 species), Mollusca (23 species), Platyhelmintnes (1 species), Cnidaria (4 species), Hexapoda (7 species) and Chordata (10 species). The most dominant species were polychaetes (*Ceratoneris burmensis, Namalycastis indica, Minuspio* sp. 1, *Pseudopolydora kempi* and *Prionospio cirrifera*), a gastropod (*Maginella* sp.), a pelecypod (*Macoma* sp.), an amphipod (*Photis longicaudata*), and a tanaid (*Ctenapseudes* sp.).

A dendrogram of 9 stations, using group averages clustering from Bray-Curtis similarities on $4^{th}$ root-transformed abundances showed four groups of stations with 60-63% similarity while a dendrogram of 6 months showed three groups of months. The results of linking biotic and 13 environmental variables (ρw) showed the best 3-variable combination of %sand, total nitrogen and dissolved oxygen (ρw=0.82) in temporal analysis and the best 8-variable combination of %clay, %silt, organic carbon, soil pH, depth, dissolved oxygen, total suspended solid and temperature (ρw=0.84) in time analysis.

For determination of the optimum sampling protocol, significant differences were found among the macrobenthic communities of different replications at a significant level of 98.9%. Results showed at 95% Bray-Curtis similarity that 7 grabs are necessary for a representative sample. At 90% Bray-Curtis similarity, it was found that 3 grabs are necessary for a representative sample, but that 26 rare species were lost. The differences in the number of replicates are related to the habitat and the season. The number of replicates that are suitable for assessing the macrobenthic fauna in the phyla Annelida, Crustacea, Mollusca and all other phyla were 3, 7, 7 and 11 replicates, respectively.

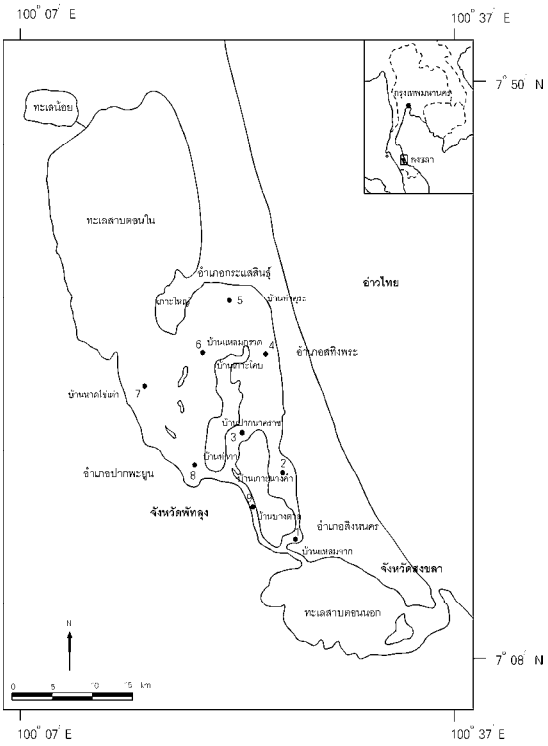
A comparison of macrobenthic fauna community structure between samples collected by the 2 mesh sizes was determined using Bray-Curtis similarity and analysis of similarity (ANOSIM). No significant differences were found among mesh samples at a significance level of 95%. But using the $\geq$0.5 mesh size, 170 species (including polychaete larvae) and 90194 individuals were found. No significant differences were found but using only the 1.0 mesh size resulted in the loss of 12 rare species and 38264 individuals. Thus any assessment of diversity and abundance of macrobenthic fauna based on such a sample will probably be low.

**Key words:** Songkhla Lake, Southern Thailand, macrobenthic fauna structure, sampling protocol

## บทนำ

ทะเลสาบสงขลาตั้งอยู่ที่ 7° 08′-7° 50′ เหนือ และ 100° 07′-100° 37′ ตะวันออก (ภาพที่ 1) เป็นทะเลสาบหนึ่งในทะเลสาบโลกทั้งหมด 117 แห่ง (Lake Biwa Research Institute and International Lake Environment Committee, 1989) มีพื้นที่ 986.8 ตารางกิโลเมตร (98,680 เฮกตาร์) ส่วนใหญ่อยู่ในจังหวัดสงขลาและพัทลุง เป็นทะเลสาบเพียงแห่งเดียวในประเทศไทย มีพื้นที่สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน (Brohmanonda and Sungkasem, 1982) ดังนี้ 1) ***ทะเลน้อย*** *(Thale Noi)* อยู่ตอนบนสุด ในเขตจังหวัดพัทลุง มีพื้นที่ประมาณ 28 ตารางกิโลเมตร (2,800 เฮกตาร์) ระยะทางโดยรอบประมาณ 20 กิโลเมตร เป็นทะเลสาบน้ำจืด และมีพืชน้ำขึ้นทั่วไปเป็นจำนวนมาก 2) ***ทะเลสาบตอนใน*** *(Inner Lake)* ***หรือตอนกลาง*** *(Middle Lake)* ***หรือทะเลหลวง*** *(Thale Luang)* อยู่ถัดจากทะเลน้อยลงมาทางใต้ มีพื้นที่ 782.8 ตารางกิโลเมตร (78,280 เฮกตาร์) มีระยะทางโดยรอบประมาณ 200 กิโลเมตร ชายฝั่งด้าน

ตะวันตกอยู่ในเขตจังหวัดพัทลุง และชายฝั่งด้านตะวันออกอยู่ในเขตจังหวัดสงขลา ตอนบนมีความเค็มของน้ำเป็นน้ำจืดถึงน้ำกร่อย ขึ้นอยู่กับฤดูกาล มีพืชน้ำปกคลุมอยู่ทั่วไป และมีมากเป็นพิเศษบริเวณริมฝั่ง ส่วนตอนล่าง (ประมาณ 390 ตารางกิโลเมตร) ซึ่งติดต่อกับทะเลสาบตอนนอก โดยคลองปากรอมีทั้งพืชน้ำและป่าชายเลนเป็นบริเวณแคบๆ มีกิจกรรมการเลี้ยงปลากระพงขาวอยู่ประปรายบริเวณใกล้คลองปากรอ ความเค็มของน้ำเป็นน้ำกร่อย อยู่ในช่วง 0-22 พีเอสยู (อังสุนีย์ และคณะ, 2539) 3) ***ทะเลสาบตอนนอกหรือทะเลสาบ*** *(Outer Lake หรือ Thale Sap)* เป็นส่วนล่างสุดของทะเลสาบสงขลา มีทางเปิดสู่ทะเล จึงเป็นทะเลสาบน้ำกร่อยจนถึงน้ำเค็ม ขึ้นอยู่กับฤดูกาล มีพื้นที่ประมาณ 176 ตารางกิโลเมตร (17,600 เฮกตาร์) อยู่ในเขตจังหวัดสงขลา จึงมักเรียกทะเลสาบในส่วนนี้ว่าทะเลสาบสงขลา (Thale Sap Songkhla) ริมฝั่งทะเลสาบสงขลาบางแห่งมีป่าชายเลนขึ้นประปราย เช่น ในคลองพะวง แต่นับวันจะมีพื้นที่ป่าลดลงเรื่อยๆ สัตว์หน้าดินในทะเลสาบสงขลาตอนนอกมีความอุดมสมบูรณ์ (Angsupanich and Kuwabara, 1995) โดยมีกลุ่มหลัก 3 กลุ่ม ได้แก่ Polychaeta 44 ชนิด Mollusca 28 ชนิด และ Crustacea 44 ชนิด Polychaeta ที่เป็นชนิดเด่น ได้แก่ *Diopatra neapolitana* และ *Heteromastus filiformis* ส่วน Crustacea ที่เป็นชนิดเด่น ได้แก่ *Apseudes* และ Amphipoda และพวก Mollusca ไม่มีชนิดใดเด่นเป็นพิเศษ



ภาพที่ 1. สถานีเก็บตัวอย่างบริเวณตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน

จากการศึกษาเกี่ยวกับสัตว์หน้าดินในทะเลสาบสงขลาในอดีต (สวัสดิ์ และสมชาติ, 2512, 2513; ไพโรจน์ และคณะ, 2520, 2521; ไพโรจน์ และคณิต, 2525; ยงยุทธ และนิคม, 2540) เป็นการรายงานเฉพาะความอุดมสมบูรณ์ ไม่มีการรายงานด้านความหลากหลายถึงระดับสกุลและสปีชีส์ ยิ่งกว่านั้นวิธีการเก็บสัตว์หน้าดิน จำนวนซ้ำ ขนาดพื้นที่ grab ขนาดตาของตะแกรงร่อน เพื่อศึกษาในเชิงปริมาณและความหลากหลายในเขตร้อน ยังไม่มีการรายงานการศึกษาโดยการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติอย่างเป็นทางการ ดังนั้น การวิจัยในครั้งนี้ต้องการรู้ข้อมูลพื้นฐานด้านสัตว์หน้าดินกลุ่มสำคัญในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน ซึ่งเป็นบริเวณที่มีสัตว์น้ำอุดมสมบูรณ์ ตั้งแต่บ้านแหลมยาง (เกาะใหญ่) ถึงบ้านปากขาด (ปากรอ) ในเรื่องของความหลากหลายและความชุกชุมของสัตว์หน้าดิน, สปีชีส์เด่นและ/หรือประจำถิ่นของสัตว์หน้าดิน, การแปรผันตามฤดูกาลของจำนวนสปีชีส์สัตว์หน้าดินดังกล่าวในรอบปี, ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีบางประการของน้ำและดินตะกอนเพื่อหาความสัมพันธ์กับสัตว์หน้าดิน พร้อมทั้งค้นคว้าวิธีการศึกษาสัตว์หน้าดินในเชิงคุณภาพและปริมาณ ในเรื่องของวิธีเก็บตัวอย่างที่เหมาะสมที่สุดเพื่อศึกษาปริมาณสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ และเก็บรวบรวมตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ที่พบเพื่อเก็บเป็นพิพิธภัณฑ์ในอนาคต ลดปัญหาการขาดข้อมูลพื้นฐานที่แท้จริงในขณะที่ยังไม่มีการพัฒนาการใช้พื้นที่เพื่อการอุตสาหกรรมและสิ่งก่อสร้างอื่นๆ โดยเฉพาะการสร้างคันกั้นน้ำเค็มในทะเลสาบตอนกลางดังกล่าว นับเป็นเรื่องเร่งด่วนที่ต้องศึกษาอย่างจริงจัง

## วิธีการ

### *การศึกษาความหลากหลายและความชุกชุมของสัตว์หน้าดิน*

ทำการเก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินในแต่ละสถานี โดยดัดแปลงวิธีการของ McIntyre et al. (1984) และ Ferraro

et al. (1994) และข้อเสนอแนะของ Green (1980) ซึ่งกล่าวว่า การเก็บตัวอย่างหลายซ้ำโดยแต่ละซ้ำมีขนาดเล็ก จะได้เปรียบในเรื่องการวิเคราะห์ทางสถิติในทางปฏิบัติ (ในบางกรณี) และครอบคลุมตัวแทนของพื้นที่ได้มากกว่าการเก็บตัวอย่างด้วยจำนวนซ้ำน้อยโดยแต่ละซ้ำมีขนาดใหญ่ ถ้าประชากรที่ถูกเก็บมีการแพร่กระจายต่อเนื่องกันได้ ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จะเก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินด้วย Tamura' s grab (พื้นที่ 0.05 ตารางเมตร) สถานีละ 11 grab แล้วร่อนด้วยตะแกรงร่อนที่มีขนาดตา 5, 1 และ 0.5 มิลลิเมตร เก็บรักษาตัวอย่างสัตว์หน้าดินทันทีด้วยน้ำยา rose bengal formalin เป็นกลาง 10% เก็บตัวอย่างทุกสองเดือนในหนึ่งรอบปีฤดูกาล (รวม 7 ครั้ง เป็นจำนวน 693 ตัวอย่าง) โดยจะเป็นการสำรวจเบื้องต้น 1 ครั้งก่อน เพื่อกำหนดสถานีเก็บตัวอย่างให้ครอบคลุมพื้นที่ต่างๆ มากที่สุด จำแนกตัวอย่างสัตว์หน้าดินถึงระดับสกุลหรือสปีชีส์ (ยกเว้นบางกรณี เช่น ไฟลัม Mollusca อาจจำแนกได้เพียงระดับวงศ์หรือสกุล) โดยทำการชำแหละ (dissect) ส่วนต่างๆ ของสัตว์ แล้วศึกษาเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงต่างๆ ทั่วโลก ศึกษาความชุกชุมโดยการนับจำนวนตัว และชั่งน้ำหนักเปียก

***การศึกษาคุณภาพน้ำ***

การศึกษาคุณภาพน้ำจะทำทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดิน โดยเก็บสถานีละ 3 ซ้ำ

ศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพ: วัดความลึกด้วยลูกดิ่ง วัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ และวัดความขุ่นโดยชั่งหาน้ำหนักแห้งของตะกอนแขวนลอยในน้ำ

ศึกษาคุณภาพน้ำทางเคมี: วัดความเค็มด้วยซาลิโนมิเตอร์ (SAL-50) วัดพีเอชด้วยพีเอชมิเตอร์ และวัดออกซิเจนที่ละลายน้ำด้วยออกซิเจนมิเตอร์ (YSI Model 57) การวัดคุณภาพน้ำทางเคมีวัดเฉพาะที่ความลึกเหนือผิวดินไม่เกิน 50 เซ็นติเมตร

***การศึกษาคุณภาพดินตะกอน***

การศึกษาคุณภาพดินตะกอนจะทำทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดิน โดยเก็บสถานีละ 3 ซ้ำ

ศึกษาคุณภาพดินทางกายภาพ: วัดขนาดอนุภาคเม็ดดินโดยวิธี Hydrometer method (Gee and Bauder, 1986)

ศึกษาคุณภาพดินทางเคมี: วัดปริมาณคาร์บอนอินทรีย์และไนโตรเจนอินทรีย์ (Nelson and Sommer, 1982)

ความถี่ในการออกเก็บตัวอย่างได้ดำเนินการทุก 2 เดือน (กุมภาพันธ์, เมษายน, มิถุนายน, สิงหาคม, ตุลาคม, และธันวาคม) เดือนต่างๆ เหล่านี้ได้ยึดข้อมูลของกองภูมิอากาศ (2532) ซึ่งระบุว่า ฤดูร้อนอยู่ในช่วงกลางเดือนกุมภาพันธ์ถึงกลางเดือนพฤษภาคม ฤดูฝนตกน้อย (มรสุมตะวันตกเฉียงใต้) ช่วงกลางเดือนพฤษภาคมถึงกลางเดือนตุลาคม และฤดูฝนตกหนัก (มรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ) ช่วงกลางเดือนตุลาคมถึงกลางเดือนกุมภาพันธ์

***การศึกษาจำนวนซ้ำของการเก็บตัวอย่าง***

กำหนดให้ทรีทเมนต์ คือ จำนวนซ้ำสะสม (Elliott, 1977; Gamito and Raffaelli, 1992) ของการสุ่มเก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ จำนวน 6 ทรีทเมนต์ คือ 1, 3, 5, 7, 9 และ 11 ซ้ำ

**การศึกษาการใช้ตะแกรงแยกตัวอย่างสัตว์ออกจากตะกอนดิน**

เปรียบเทียบชนิดและจำนวนสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่จากวิธีการแยกตัวอย่างสัตว์ 2 ทรีทเมนต์ คือ

ทรีทเมนต์ที่ 1 ตัวอย่างสัตว์หน้าดินที่แยกด้วยตะแกรงขนาดตา $\geq$1.0 มิลลิเมตร

ทรีทเมนต์ที่ 2 ตัวอย่างสัตว์หน้าดินที่แยกด้วยตะแกรงขนาดตา $\geq$0.5 มิลลิเมตร

***การวิเคราะห์โครงสร้างของประชาคมสัตว์หน้าดิน***

การวิเคราะห์ประกอบด้วยจำนวนสปีชีส์ และจำนวนตัวในแต่ละสปีชีส์ จำแนกชนิด สัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ถึงระดับสกุล (genus) หรือสปีชีส์ (species) เท่าที่เป็นไปได้ โดยใช้เอกสารอนุกรมวิธาน และนำตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ไปตรวจความถูกต้องในการจำแนกสปีชีส์กับผู้เชี่ยวชาญที่สถาบันต่างๆ ดังนี้ จำแนกสปีชีส์ลูกปลาวัยอ่อนที่ศูนย์พัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยตอนบน (คุณรังสรรค์ ฉายากุล) และที่สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จ. สงขลา (คุณไพโรจน์ สิริมนตาภรณ์) ตรวจความถูกต้องในการจำแนกพวกโพลีชีตที่ Natural History Museum, England (Dr.

Gordon Paterson and Dr. Alexander Ian Muir), Plymouth Marine Laboratory, England (Dr. Mike Kendall), Coastal Museum of Natural History, Yokohama National University (Dr. Eijiroh Nishi) และ Department of Ecologia Acuatica, Mexico (Dr. Sergio I. Salazar-Vallejo) ส่วนพวก Tanaidacea ตรวจสอบความถูกต้องในการจำแนกสปีชีส์ที่ Museum National D'Histoire Naturelle "Grigore Antipa", Romania (Dr. Modest Gutu), และ Natural History Museum, England (Dr. Roger Bamber) ตัวอย่างสัตว์พวก Amphipoda ได้รับการตรวจความถูกต้องที่ Department of Zoology and Animal Ecology, Ireland (Dr. Alan A. Myers) และ Australian Museum (Dr. Jim Lowry) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์โดยวิธีทางสถิติแบบ Multivariate analysis (eg. Bray-Curtis similarity และ Non-Metric Multidimentional Scaling, MDS) ด้วยโปรแกรม PRIMER

## ผลการวิจัย

### *คุณภาพน้ำ*

คุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีโดยทั่วไปของน้ำในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน มีลักษณะใกล้เคียงกับทะเลสาบสงขลาตอนนอก (Rakkheaw, 1994) และทะเลสาบสงขลาตอนใน (ยงยุทธ และนิคม, 2540) มีเพียงความเค็มของน้ำเท่านั้นที่มีการแปรผันแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าน้ำในทะเลสาบสงขลามีความเค็มต่ำที่สุดหรือเป็นน้ำจืดจนถึงปากทะเลสาบสงขลา ในเดือนพฤศจิกายน และ/หรือธันวาคม ซึ่งเป็นฤดูฝนตกหนักเนื่องจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ (Rakkheaw, 1994; ยงยุทธ และนิคม, 2540) แต่จากการตรวจวัด ในครั้งนี้พบว่า ความเค็มของน้ำในเดือนธันวาคม พ.ศ.2541 ในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในอยู่ในช่วง 1.6-3.8 พีเอสยู ในขณะที่น้ำในเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2542 มีความเค็มต่ำกว่า (0 พีเอสยู) ซึ่งต่ำกว่าความเค็มในเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2541 (3.0-17.5 พีเอสยู) อย่างชัดเจน ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำฝนในฤดูฝนในปี พ.ศ.2541 มีน้อยกว่า มีผลทำให้ความชุกชุมและการแพร่กระจายของสัตว์หน้าดินในฤดูกาลต่างๆ แตกต่างไปจากการศึกษาในอดีตได้เช่นกัน

### *คุณภาพดินตะกอน*

ปริมาณโดยเฉลี่ยของอินทรีย์วัตถุ อินทรีย์คาร์บอน และไนโตรเจนรวม ในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในที่ศึกษาในครั้งนี้ มีค่าใกล้เคียงกับทะเลสาบสงขลาตอนล่าง (Chatupote et al., 1994) และในทะเลหลวง (สมศักดิ์ และสุภาพร, 2541) ปริมาณมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยในฤดูฝนตกหนักเช่นกัน ปริมาณอินทรีย์วัตถุไม่มีแนวโน้มว่าเพิ่มขึ้นในรอบ 20 ปี เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในปี พ.ศ.2522 (ณรงค์, 2522) แต่ปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ตรวจวัดได้ในทะเลหลวงครั้งนี้มีค่าน้อยกว่าผลที่ได้จากรายงานโดย ยงยุทธ และนิคม (2540) ซึ่งวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุโดยการเผา (6-8%) จึงไม่สามารถเปรียบเทียบกับการศึกษาครั้งนี้และเอกสารที่อ้างอิงได้ เนื่องจากการวิเคราะห์โดยวิธีการออกซิไดซ์อินทรีย์วัตถุด้วยกรดโครมิก จะได้ค่าน้อยกว่าการวิเคราะห์โดยการเผา เพราะน้ำหนักที่ลดลงจากการเผาไม่ได้มาจากการสลายตัวของอินทรีย์วัตถุเพียงอย่างเดียว (Nelson and Sommers, 1982) แต่ยังเกิดจากการสลายของ $NO_2$ และ $SO_2$ สารประกอบอนินทรีย์คาร์บอน (คาร์บอเนตหรือ ไบคาร์บอเนตซึ่งจะเผาไหม้กลายเป็น $CO_2$ และน้ำที่รวมอยู่กับแร่และอนุภาคดินจะระเหยไปด้วย (สมศักดิ์ และสุภาพร, 2541) นอกจากนี้ ปริมาณไนโตรเจนรวม มีค่าลดลงอย่างเห็นชัดในช่วงต้นถึงปลายฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงใต้ (ตุลาคม ธันวาคม และกุมภาพันธ์) การลดลงนี้อาจมีความสัมพันธ์กับมวลชีวภาพของสัตว์หน้าดินรวมที่พบว่ามีแนวโน้มลดลงตั้งแต่เดือนตุลาคมจนถึงกุมภาพันธ์

### *ความหลากหลายและการแพร่กระจาย*

สัตว์หน้าดินในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในมีเพียงไม่กี่ชนิดที่เป็นชนิดเดียวกับที่เคยพบในทะเลสาบสงขลาตอนนอก (Angsupanich and Kuwabara, 1995, 1999) ได้แก่ Polychaeta 6 สปีชีส์ (*Capitlla capitata, Nephtys* sp., *Leonnates decipiens, Namalycastis indica*, *Prionospio cirrifera* และ *Neanthes* cf. *mossambica*) Decapoda 1 สีปีชีส์ (*Alpheus malabaricus songkla*) และ Tanaidacea 1 สปีชีส์ (*Ctenapseudes* sp. สปีชีส์ที่กล่าวถึงนี้เป็นชนิดเดียวกับ *Apseudes* sp.1 ที่รายงานโดย Angsupanich and Kuwabara, 1995, 1999) แม้ว่าจำนวนชนิดของสัตว์หน้าดินที่เหมือนกันมีน้อยแต่ Polychaeta ส่วนใหญ่เป็นสกุลเดียวกับที่เคยพบในทะเลสาบสงขลาตอนนอก

ความหลากหลายของสัตว์หน้าดินที่พบในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน (160 สปีชีส์ไม่รวมกลุ่มตัวอ่อนต่างๆ) มีมากกว่าที่พบในทะเลสาบสงขลาตอนนอก (122 สปีชีส์) ซึ่งรายงานโดย Angsupanich and Kuwabara (1995) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก 1) จำนวนซ้ำที่เก็บตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ (11 ซ้ำ) มากกว่าที่ศึกษาโดย Angsupanich and Kuwabara (1995) (3 ซ้ำ) ทำให้มีโอกาสเก็บตัวอย่างที่เป็นชนิดพบยากได้มากกว่า 2) ทะเลหลวง ตอนล่างได้รับอิทธิพลจากน้ำจืดมากกว่า ทำให้น้ำมีความเค็มต่ำมากในบางฤดู จึงเปิดโอกาสให้สัตว์หน้าดินที่ชอบน้ำที่มีความเค็มต่ำเติบโตได้ เช่น *Nesotanais lacustris* ตัวอ่อนแมลงน้ำและลูกปลาบางชนิด *N. lacustris* มีการแพร่กระจายกว้างขวางและมีปริมาณมากขึ้นในฤดูฝน และ 3) น้ำในทะเลหลวงตอนล่างอยู่ห่างไกลจากแหล่งชุมชนและแหล่งอุตสาหกรรม จึงอาจจะได้รับผลกระทบจากภาวะมลพิษน้อยกว่าทะเลสาบสงขลาตอนนอก *Heteromastus. filiformis* เป็นไส้เดือนทะเลชนิดหนึ่งที่ทนอยู่ได้ในบริเวณที่เกิดภาวะมลพิษหรือออกซิเจนต่ำ (Pals and Pauptit, 1979; Rosenberg et al., 1992) และทนได้ในน้ำที่มีความเค็มต่ำ (Angsupanich and Kuwabara, 1995) ตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในพบ *Heteromastus* จำนวนน้อยและไม่พบ *H. filiformis* ซึ่งแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในทะเลสาบสงขลาตอนนอก โดยเฉพาะบริเวณใกล้กับปากคลองพะวง และคลองอู่ตะเภา ซึ่งมีการปล่อยน้ำทิ้งลงมา (Angsupanich and Kuwabara, 1995, 1999) Nereidae ที่พบในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน มีจำนวนสปีชีส์ 14 สปีชีส์ มากกว่าที่เคยรายงานในทะเลสาบสงขลาตอนนอก ประมาณ 3 เท่า (Angsupanich and Kuwabara, 1995) โดยมี *Namalycastis indica* และ *Ceratoneris burmensis* เป็นสปีชีส์ที่พบมากและมีการแพร่กระจายได้กว้างขวางในทะเลหลวง ส่วนในทะเลสาบสงขลาตอนนอกพบว่า มี *Ceratonereis hircinicola* เป็นสปีชีส์เด่น *N. indica* เป็นสปีชีส์ที่พบทุกฤดูกาลในทะเลหลวง และพบมากที่ใยยึดเกาะของหอย *Brachidontes arcuatulus* ที่เกาะบนเม็ดกรวดที่สถานี 6 และเคยพบว่ามีการแพร่กระจายในคลองพะวงน้อยกว่าในคลองอู่ตะเภา ซึ่งมีความเค็มตลอดปีต่ำกว่าคลองพะวง (0.1-17.0 พีเอสยู) (Angsupanich and Kuwabara, 1999) จึงกล่าวได้ว่าไส้เดือนทะเลสปีชีส์นี้มีแนวโน้มว่าชอบอาศัยในน้ำกร่อยที่มีความเค็มไม่เกิน 20 พีเอสยู และสามารถทนได้บ้างในน้ำที่มีความเค็มต่ำมากๆ

จำนวนสปีชีส์ของหอยที่พบในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน (23 สปีชีส์) มีค่าใกล้เคียงกับที่พบในคลองอู่ตะเภา (21 สปีชีส์) คลองพะวง (17 สปีชีส์) และในทะเลสาบสงขลาตอนนอก (ไม่รวมคลองต่างๆ) (28 สปีชีส์) *Marginella* และ *Stenothyra* เป็นหอยฝาเดียวที่พบเหมือนในคลองทั้งสอง (Angsupanich and Kuwabara, 1999) ส่วน *Macoma* และ *Corbula* เป็นหอยสองฝาที่พบเหมือนในทะเลสาบสงขลาตอนนอก (Angsupanich and Kuwabara, 1995) *Marginella* และ *Macoma* เป็นหอยที่พบมากในระดับปานกลางอย่างสม่ำเสมอ และมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในทะเลหลวง จึงแตกต่างจากที่เคยรายงานในทะเลสาบสงขลาตอนนอก ซึ่งพบ *Macoma* เป็นจำนวนน้อยเท่านั้น อย่างไรก็ตาม การเปรียบเทียบสปีชีส์หอยกับบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอกไม่สามารถอภิปรายได้ชัดเจน เนื่องจากแตกต่างกันในระดับการจำแนกชนิด

Crustacea เป็นกลุ่มสัตว์หน้าดินที่สำคัญไม่น้อยไปกว่า Polychaeta แม้ว่ามีจำนวนสปีชีส์น้อยกว่า Crustacea (27 วงศ์) ที่พบแต่ละสปีชีส์มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากกว่า Polychaeta (20 วงศ์) อาจทำให้ Crustacea มีบทบาทได้หลากหลายในระบบนิเวศมากกว่า สกุล Crustacea ที่พบว่ามีความชุกชุมและมีการแพร่กระจายได้กว้างขวางทั้งในเชิงพื้นที่และฤดูกาลคือ *Ctenapseudes* sp. (=*Apseudes* sp.1 ในรายงานของ Angsupanich and Kuwabara, 1995, 1999) โดยพบมากทั้งในทะเลสาบตอนนอกด้วยเช่นกัน ยกเว้นบริเวณปากทะเลสาบสงขลาซึ่งเป็นบริเวณที่น้ำมีความเค็มใกล้เคียงกับน้ำทะเลเปิด (Angsupanich and Kuwabara, 1995; Yokokawa, 1984) สังเกตว่าสปีชีส์นี้มีปริมาณเพิ่มขึ้นช่วงปลายฤดูฝน (กุมภาพันธ์) ซึ่งเป็นช่วงที่น้ำในทะเลสาบสงขลาตอนนอกมีความเค็มค่อนข้างต่ำ (แต่ไม่เป็น 0) (Angsupanich and Kuwabara, 1995) เช่นเดียวกับที่พบในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน

***ความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์หน้าดิน***

จำนวนสปีชีส์ในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในมีมากกว่าในทะเลสาบสงขลาตอนนอก ซึ่งอาจจะด้วยเหตุผลบางประการที่กล่าวข้างต้น แต่ในเชิงปริมาณต่อหน่วยพื้นที่พบว่า ในทะเลหลวงมีความอุดมสมบูรณ์น้อยกว่าเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตาม ตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในจัดว่ามีความอุดมสมบูรณ์ปานกลางถึงสูงในบางฤดูกาล

ซึ่งถือเป็นเหตุการณ์ปกติของแหล่งน้ำที่น้ำเป็นน้ำกร่อยและจืดในบางฤดู โดยทั่วไปความหลากหลายของสัตว์หน้าดินบริเวณชายฝั่งทะเลมีค่าลดลงเมื่อน้ำมีความเค็มลดลง (Dauer, 1993; Angsupanich and Kuwabara, 1995; ยงยุทธ และนิคม, 2540) ข้อคิดเห็นนี้อาจจะเหมาะกับพวก Polychaeta และ Mollusca มากกว่าพวก Crustacea ในทะเลหลวง เนื่องจากความหลากหลายของ Crustacea ในฤดูฝนเดือนกุมภาพันธ์มีน้อยกว่าในฤดูร้อนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ยิ่งกว่านั้น มี Crustacea บางชนิด (*Ctenapseudes* sp. และ *Nesotanais* sp.) เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากจนมีจำนวนรวมของ Crustacea ใกล้เคียงกับในฤดูร้อน จึงทำให้จำนวนสัตว์หน้าดินรวมทั้งตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในไม่แตกต่างตามฤดูกาลมากนัก เป็นข้อดีของทะเลหลวงที่มีอาหารธรรมชาติไว้เลี้ยงสัตว์น้ำอย่างสม่ำเสมอเกือบตลอดปี อย่างไรก็ตาม ปรากฏการณ์อาจไม่คงสภาพถาวรทุกปีขึ้นกับสภาพภูมิอากาศ

***โครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดินและความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อม***

ความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์หน้าดินในทะเลหลวงไม่ได้ขึ้นอยู่กับจำนวนหรือปริมาณสัตว์หน้าดินแต่เพียงอย่างเดียว แต่จะต้องคำนึงถึงความหลากหลายด้วย เมื่อพิจารณาโครงสร้างของประชาคมสัตว์หน้าดิน โดยใช้เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงของ Bray-Curtis similality ซึ่งแสดงเป็น cluster พบว่า สัตว์หน้าดินแต่ละกลุ่มมีความคล้ายคลึงกันในระหว่างฤดูกาลปานกลาง (50-80%) ที่ความคล้ายคลึง 70% สัตว์หน้าดินทุกกลุ่มในเดือนเมษายนมีโครงสร้างแตกต่างกับเดือนอื่นๆ มากที่สุด และเมื่อพิจารณาโครงสร้างสัตว์หน้าดินในภาพรวมพบว่า สามารถจัดเป็น 4 กลุ่ม ตามระดับจากความเค็มต่ำไปสูง ดังนี้ (กุมภาพันธ์) (ธันวาคม) (ตุลาคม-สิงหาคม-มิถุนายน) และ (เมษายน) โดยที่โครงสร้างสัตว์หน้าดินในเดือนเมษายนคล้ายกับเดือนมิถุนายนมากกว่าคล้ายกับเดือนอื่นๆ และเดือนกุมภาพันธ์เดือนธันวาคมมากกว่าเดือนอื่นๆ จึงอาจสรุปได้ว่า ความคล้ายคลึงของโครงสร้างของสัตว์หน้าดินมี 3 ฤดูกาล คือ ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ (ธันวาคม-กุมภาพันธ์) ฤดูร้อน (เมษายน) และฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ (มิถุนายน-สิงหาคม-ตุลาคม)

นอกจากความอุดมสมบูรณ์และความคล้ายคลึงกันของโครงสร้างสัตว์หน้าดินในระหว่างฤดูกาลแล้ว การศึกษาในเชิงสถานีเป็นสิ่งที่ควรศึกษา ถ้าหากต้องการหาพื้นที่ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหรือปล่อยพันธุ์สัตว์น้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการประมง

ความอุดมสมบูรณ์โดยเฉลี่ยมีความแตกต่างกันระหว่างสถานี สถานีที่มีความหลากหลายตั้งแต่ 100 สปีชีส์ ขึ้นไป คือ สถานี 1 ซึ่งสัมผัสกับน้ำทะเลจากชายฝั่งมากที่สุด (100 สปีชีส์) สถานี 6 มีพื้นเป็นกรวดซึ่งเป็นที่เกาะของหอยสองฝา มีมากที่สุดทั้งสปีชีส์ (105 สปีชีส์) และปริมาณรวมโดยเฉลี่ย (10,616 ตัว/ตารางเมตร = 1,812 กรัม/ตารางเมตร) โดย Crustacea มีมากที่สุดที่สถานีนี้ ในความเป็นจริงแล้ว สถานี 6 ควรมีสัตว์หน้าดินชุกชุมมากกว่านี้ ถ้าไม่มีการทำประมงหอยที่นี่ และสถานี 9 มีพืชป่าชายเลนหลายชนิดมี สัตว์หน้าดิน 105 สปีชีส์ แต่ปริมาณรวมของสัตว์หน้าดินไม่มากนัก สถานีนี้มี Polychaete เป็นกลุ่มสำคัญ ส่วนสถานีอื่นๆ ใกล้เคียงกัน แต่ถ้าพิจารณาความคล้ายคลึงของประชาคมสัตว์หน้าดินในภาพรวมโดย Bray-Curtis similarity พบว่า สถานี 6 แตกต่างจากกลุ่มอื่นมากที่สุด รองลงมาเป็นสถานี 9 ตามด้วยสถานี 4 และ 5 ส่วนสถานีที่เหลือค่อนข้างเกาะกลุ่มใกล้กัน

ความสัมพันธ์ระหว่างสัตว์หน้าดินรวมกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมในเชิงสถานี โดยหาค่าสหสัมพันธ์พบว่า ปัจจัยที่สำคัญเป็นดินตะกอนเช่นกัน ต่างกันที่เป็นไนโตรเจนอินทรีย์และมีปัจจัยของมวลน้ำ ที่สำคัญมีออกซิเจนที่ละลายในน้ำเท่านั้น ส่วนโครงสร้างของดินเป็น %Sand เด่นที่สุด ค่าสหสัมพันธ์ที่ชัดเจนที่สุดคือ 0.82 ส่วนค่าสหสัมพันธ์ในสัตว์แต่ละไฟลัมไม่ชัดเจนนัก (0.37-0.74)

แม้ว่าสัตว์หน้าดินในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในมีความชุกชุมน้อยกว่าในทะเลสาบสงขลาตอนล่าง และมีจำนวนสัตว์หน้าดินน้อยในบางสถานี (สถานี 3, 7, และ 8) และบางเดือน (ตุลาคม) แต่จัดได้ว่าเป็นแหล่งน้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์มาก (1,500-6,000 ตัว/ตารางเมตร) และความหลากหลายสูง (12 สปีชีส์/0.05 ตารางเมตร) ถ้าเปรียบเทียบกับค่าที่เสนอโดย Kikuchi (1991) (>5 สปีชีส์/0.1 ตารางเมตร และ >100 ตัว/ตารางเมตร) ยิ่งกว่านั้นสัดส่วนของกลุ่มสัตว์หน้าดินส่วนใหญ่ทั้งในเดือนต่างๆ และสถานีต่างๆ มี Crustacea เป็นกลุ่มเด่น ซึ่งแสดงว่าน้ำในตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในยังไม่เกิดภาวะมลพิษ ซึ่งสอดคล้องกับคุณภาพน้ำ (ออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความขุ่น

และพีเอส) และคุณภาพตะกอนดิน (อินทรีย์วัตถุต่างๆ และพีเอส) ที่วัดแล้วพบว่ายังอยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งที่ใดก็ตามหากมีพวก polychaete เพิ่มขึ้นมากจะทำให้ crustacean ลดลง เนื่องจากสภาพแวดล้อมเกิดภาวะมลพิษ (Amio, 1979)

เพื่อเป็นประโยชน์ในการจัดการประมงบริเวณตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน ในเรื่องการปล่อยพันธุ์สัตว์น้ำเพื่อเพิ่มผลผลิต จึงขอเสนอข้อมูลเบื้องต้นที่จำเป็นเพื่อประกอบการพิจารณาดังตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1. ข้อมูลเบื้องต้นที่เป็นประโยชน์ต่อการปล่อยพันธุ์สัตว์น้ำในแต่ละเดือน

| เดือน | ความเค็ม (พีเอสยู) | จำนวนสัตว์หน้าดินรวม | Polychaeta | Crustacea | Mollusca |
|---|---|---|---|---|---|
| เมษายน 2541 | 10-30 | มากที่สุด | น้อย | มากที่สุด | มากที่สุด |
| มิถุนายน | 10-26 | มาก | มาก | มาก | มาก |
| สิงหาคม | 11-26 | มาก | มาก | ปานกลาง | ปานกลาง |
| ตุลาคม | 13-23 | น้อยที่สุด | ปานกลาง | น้อยที่สุด | น้อย |
| ธันวาคม* | 2-4 | มาก | น้อย | มาก | ปานกลาง |
| กุมภาพันธ์* 2542 | 0-0 | มาก | น้อยที่สุด | มาก | น้อย |

* เป็นปีที่ฝนตกไม่เป็นไปตามปกติในรอบ 10 ปี ความเค็มของน้ำในเดือนต่างๆ จึงแตกต่างจากการศึกษาในอดีต

ตารางที่ 2. ข้อมูลเบื้องต้นที่เป็นประโยชน์ต่อการปล่อยพันธุ์สัตว์น้ำในแต่ละสถานี

| สถานี | ความลึก (ม.) | ความเค็ม (พีเอสยู) | จำนวนสัตว์หน้าดินรวม | Polychaeta | Crustacea | Mollusca | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.6 | 0-30 | มาก | น้อย | มาก | มาก | - |
| 2 | 1.2 | 0-30 | มาก | น้อย | มาก | มาก | - |
| 3 | 1.4 | 0-26 | น้อย | น้อย | น้อย | ปานกลาง | - |
| 4 | 0.8 | 0-20 | มาก | น้อย | มาก | มาก | - |
| 5 | 1.2 | 0-22 | ปานกลาง | น้อย | น้อย | มาก | ใกล้ฝั่งมีพืชน้ำ |
| 6 | 1.3 | 0-18 | มากที่สุด | ปานกลาง | มากที่สุด | มากที่สุด | พื้นเป็นกรวดมีการประมงหอย |
| 7 | 1.6 | 0-18 | น้อยที่สุด | น้อย | น้อย | น้อย | - |
| 8 | 2.2 | 0-24 | ปานกลาง | น้อย | มาก | ปานกลาง | ใกล้ชุมชน |
| 9 | 0.9 | 0-25 | ปานกลาง | ปานกลาง | ปานกลาง | ปานกลาง | มีต้นลำพูโกงกาง |

***จำนวนซ้ำของการเก็บตัวอย่าง***

การเก็บตัวอย่างให้น่าเชื่อถือมากต้องเก็บตัวอย่างมากกว่า 50 ซ้ำ แต่เป็นไปไม่ได้ที่จะคัดแยกและนับตัวอย่างจำนวนมากเช่นนั้น (Elliott, 1977) ที่ผ่านมาจึงมีการหาจำนวนซ้ำที่เหมาะสม โดยกำหนดจำนวนซ้ำจากจำนวนตัวหรือจำนวนสปีชีส์ที่เป็นข้อมูลจริง (number taxa) และการวิเคราะห์ข้อมูลให้อยู่ในรูปของดัชนี แล้วจึงเปรียบเทียบค่าดัชนีเพื่อหาจำนวนซ้ำที่เหมาะสม จำนวนซ้ำที่ได้จากข้อมูลจริงของจำนวนสปีชีส์มักมีมากกว่าจำนวนซ้ำที่ได้จากการคำนวณให้อยู่ในรูปของดัชนี แต่การหาทางลดจำนวนซ้ำลงนั้นเป็นความต้องการในทางปฏิบัติ อย่างไรก็ตาม จำนวนซ้ำน้อยอาจจะไม่ถูกต้องเสมอไป เนื่องจากค่าดัชนีต่างๆ มีข้อแตกต่างกัน Ferraro and Cole (1992) ศึกษาจำนวนซ้ำที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่บริเวณที่เกิดมลพิษจากน้ำมันต่อประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่จำนวน 163 taxa บริเวณใกล้คลังน้ำมันที่ช่องแคบ Puget Sound, รัฐวอชิงตัน ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยใช้ดัชนีต่างๆ กัน ให้ผลลัพธ์แตกต่างกันได้แม้ว่าเป็นการคำนวณจากข้อมูลชุดเดียวกัน ซึ่งให้เหตุผลว่าดัชนีแต่ละสูตรมีความไวแตกต่างกันในการตรวจวัดความมากหรือน้อยของจำนวนสปีชีส์ และการกระจายของจำนวนตัวระหว่างสปีชีส์ Warwick and Clarke (1991) กล่าวว่า การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ multivariate มีความไวมากในการตรวจจับความแตกต่างของประชาคมสัตว์หน้าดิน

การวิจัยเพื่อหาวิธีการศึกษาสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ให้มีประสิทธิภาพโดยเน้นที่จำนวนซ้ำ ขนาดพื้นที่อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง และขนาดตาตะแกรงแยกตัวอย่าง ได้มีมานานแล้ว และได้เสนอผลการวิจัยที่มีทั้งคล้ายกันและต่างกัน โดยต้องพิจารณาควบคู่กับปัจจัยจำกัดอื่นที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของสัตว์หน้าดิน (ลักษณะแหล่งที่อยู่ และฤดูกาล) และลักษณะหรือพฤติกรรมของสัตว์ด้วย เช่น การวิจัยนิเวศวิทยาของ *Capitella capitata* บริเวณ Lagos Lagoon ประเทศไนจีเรีย ในฤดูแล้งและฤดูฝน ซึ่งเลือกใช้ van Veen grab ขนาดพื้นที่ 0.1 ตารางเมตร พบว่า ในปีแรก

ของการวิจัยเก็บตัวอย่างจำนวน 5 ซ้ำ ปีที่สอง ต้องเพิ่มการเก็บตัวอย่างเป็น 10 ซ้ำ ในสถานีที่มีความหนาแน่นของสัตว์หน้าดินน้อย เนื่องจากสถานีนั้นๆ ได้รับน้ำจืดมากจากฝนตก ทำให้ปริมาณสัตว์หน้าดินลดลงมาก ทั้งๆ ที่เป็นสถานีเดียวกัน (Ajao and Fagade, 1990)

ดังนั้น จากการศึกษาครั้งนี้ จำนวนซ้ำที่เหมาะสมในการศึกษาโครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่เชิงพื้นที่ 7-11 ซ้ำ และเวลา 7-9 ซ้ำ ซึ่งมีความแตกต่างกันเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องจากคุณภาพน้ำระหว่างฤดูกาล และความแตกต่างระหว่างพื้นท้องน้ำระหว่างสถานี มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของโครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดิน

***ขนาดตะแกรงแยกตัวอย่าง***

การศึกษาสัตว์หน้าดินนิยมใช้ตะแกรงขนาดตา 0.5-2.0 มิลลิเมตร โดยใช้ตะแกรงตาละเอียดเพื่อรวบรวมสัตว์หน้าดินวัยอ่อน และใช้ตาขนาดใหญ่มากที่สุดในการเก็บตัวอย่างจากทะเลลึก (Eleftheriou and Holme, 1984) Ferraro et al. (1994) รายงานว่า ตะแกรงขนาดตา 1.0 มิลลิเมตร แยกจำนวนสปีชีส์ ได้ 73% และตะแกรงขนาดตา 0.5 มิลลิเมตร แยกจำนวนตัวได้ 49% เวลาที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆ ของการศึกษาตัวอย่างที่ได้จากการใช้ตะแกรงขนาดตา ≥0.5 มิลลิเมตร ใช้เวลามากกว่าการใช้ตะแกรงขนาดตา ≥1.0 มิลลิเมตร ถึง 2.5 เท่า การศึกษาในครั้งนี้ใช้ตะแกรงขนาดตา ≥1.0 มิลลิเมตร แยกสปีชีส์ได้ 93% (160/172) ของจำนวนสปีชีส์ทั้งหมด และจำนวนตัว 58% (51,930/90,194) ของจำนวนตัวทั้งหมด และการใช้ตะแกรงขนาดตา 0.5 มิลลิเมตร แยกสปีชีส์ได้ 7% (12/172) ของจำนวนสปีชีส์ทั้งหมด และจำนวนตัว 42% (38,264/90,194) ของจำนวนตัวทั้งหมด

จำนวนสปีชีส์ที่พบในตะแกรงขนาดตา ≥0.5 มิลลิเมตร ในช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายน มีจำนวนมาก เนื่องจากมีสปีชีส์ที่ตัวเต็มวัยมีขนาดเล็กและมีลูกหอยวัยอ่อน ในขณะที่เดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์ มี Crustacea วัยอ่อน แต่พบจำนวนสปีชีส์และจำนวนตัวน้อยกว่าช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายน Reish (1959) อ้างโดย Gray (1981) เก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ที่ชายฝั่งแคลิฟอร์เนียพบว่า มี Crustacea ส่วนใหญ่หลุดรอดจากตะแกรงขนาดตา ≥0.5 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์สัตว์หน้าดินที่รวบรวมได้บริเวณตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน (ตารางที่ 4) พบว่า เปอร์เซ็นต์จำนวนตัวของสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ที่ค้างอยู่บนตะแกรง 0.5 มิลลิเมตร ที่ศึกษาบริเวณชายฝั่งแคลิฟอร์เนีย (30.7) ต่ำกว่าที่ศึกษาบริเวณตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนใน (42.4%)

การศึกษาเพื่อประเมินความหลากหลายและความชุกชุมในครั้งนี้ ควรใช้ตะแกรงขนาดตา 0.5 มิลลิเมตร เพราะจำนวนตัวของสปีชีส์ที่มีขนาดเล็ก และลูกสัตว์วัยอ่อนมีมากเกือบครึ่งหนึ่ง (42.4%) ของจำนวนตัวทั้งหมด แม้ว่าค่าสถิติ (ANOSIM) สรุปว่า โครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ซึ่งแยกได้ด้วยตะแกรงขนาดตา 1.0 และ 0.5 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95%

ตารางที่ 3. เปอร์เซ็นต์จำนวนตัวของสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ซึ่งได้จากการเก็บตัวอย่างด้วยตะแกรงขนาดตา ≥1.0 และ ≥0.5 มิลลิเมตร

| Location | California | (Reish, 1959; Gray 1981) | | quoted in this study | |
|---|---|---|---|---|---|
| Taxa / Mesh size : | 1.0 mm | 0.5 mm | Residue | 1.0 mm | 0.5 mm |
| Nematoda | 0.0 | 1.5 | 98.5 | - | - |
| Nemertea | 69.2 | 30.8 | 0.0 | 51.3 | 48.7 |
| Polychaeta | | | | 55.5 | 44.5 |
| *Lumbrinereis* | 95.2 | 4.8 | 0.0 | - | - |
| *Doruillea articulata* | 62.2 | 34.4 | 3.4 | - | - |
| *Prionospio cirrifera* | 42.8 | 57.0 | 0.2 | - | - |
| *Capitita ambiseta* | 45.8 | 53.6 | 0.6 | - | - |
| *Cossura candida* | 1.4 | 75.2 | 23.4 | - | - |
| Orther polychaetes | 58.3 | 35.1 | 6.6 | - | - |
| Crustacea | 17.6 | 35.3 | 47.1 | 57.1 | 42.9 |
| Mollusca | 87.5 | 12.5 | 0.0 | 58.6 | 41.4 |
| Other | - | - | - | 63.2 | 36.8 |
| Total | 37.0 | 30.7 | 32.3 | 57.6 | 42.4 |

## บทสรุป

แหล่งที่อยู่อาศัยบริเวณตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในประกอบด้วยแหล่งพืชน้ำ ป่าชายเลน พื้นที่เป็นตะกอนดินโคลน กรวดทราย มีกิจกรรมต่างๆ เช่น นากุ้ง และแหล่งเครื่องมือประมงประจำถิ่น การเลี้ยงปลาในกระชัง และมีทั้งพื้นที่ใกล้หรือไกลแหล่งชุมชน เป็นต้น พบสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่จำนวน 8 ไฟลัม คือ Annelida (68 สปีชีส์) Crustacea (56 สปีชีส์) Mollusca (23 สปีชีส์) Chordata (10 สปีชีส์) Hexapoda (7 สปีชีส์) Cnidaria (4 สปีชีส์) Nemertea (1 สปีชีส์) และ Platyhelminthes (1 สปีชีส์) จำนวนสปีชีส์เฉลี่ย 12 สปีชีส์/0.05 ตารางเมตร จำนวนตัวเฉลี่ย 152 ตัว 0.05 ตารางเมตร จัดเป็นแหล่งน้ำที่มีความชุกชุมมาก สำหรับแหล่งที่อยู่ซึ่งแตกต่างกันทำให้โครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่แตกต่างกัน บริเวณที่เป็นกรวดทรายและพื้นที่ป่าชายเลนมีความหลากหลายมากที่สุด (105 สปีชีส์) จำนวนสปีชีส์น้อยที่สุดพบในแหล่งพืชน้ำ (65 สปีชีส์)

จำนวนซ้ำที่เหมาะสมในการศึกษาโครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ในแต่ละไฟลัม ได้แก่ Annelida, Crustacea, Mollusca และ ไฟลัมอื่นๆ คือ 3, 7, 7, และ 11 ซ้ำ ตามลำดับ จำนวนซ้ำที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างในบริเวณตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในคือ 7 ซ้ำ จากการศึกษาโครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่แต่ละไฟลัม ได้แก่ Annelida, Crustacea, Mollusca, และไฟลัมอื่นๆ คือ 3, 3, 3, และ 7 ซ้ำ ตามลำดับ จำนวนซ้ำที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างในบริเวณตอนล่างของทะเลสาบสงขลาตอนในคือ 3 ซ้ำ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4. จำนวนซ้ำที่เหมาะสมที่ความคล้ายคลึงแบบ Bray-Curtis 95 และ 90% โดยรวม

| Total and Phyla | Bray-Curtis similarity 95% | | Bray-Curtis similarity 90% | | lost species number |
|---|---|---|---|---|---|
| | Replication number | Species number | Replication number | Species number | |
| Total | 7 | 158 | 3 | 144 | 14 |
| Annelida | 3 | 61 | 3 | 61 | 0 |
| Crustacea | 7 | 51 | 3 | 45 | 6 |
| Mollusca | 7 | 23 | 3 | 19 | 4 |
| Others | 11 | 23 | 7 | 20 | 3 |

การใช้ตะแกรงแยกตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่พบว่า ตะแกรงขนาดตา $\geq$1.0 มิลลิเมตร แยกสปีชีส์ได้ 93% ของจำนวนสปีชีส์ทั้งหมด และแยกจำนวนตัวได้ 58% ของจำนวนตัวทั้งหมด ส่วนตะแกรงขนาดตา 0.5 มิลลิเมตร แยกตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่แล้วพบจำนวนสปีชีส์และจำนวนตัวเพิ่มขึ้น ทำให้โครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ที่ได้จากการใช้ตะแกรงขนาดตา $\geq$1.0 และ $\geq$0.5 มิลลิเมตร มีความคล้ายคลึงแบบ Bray-Curtis โดยรวมแตกต่างกันดังนี้

การใช้ตะแกรงขนาดตา $\geq$1.0 และ $\geq$0.5 มิลลิเมตร แยกตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่โดยรวมพบว่า มีความคล้ายคลึงแบบ Bray-Curtis 90.7% การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ (ANOSIM) พบว่า โครงสร้างประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ซึ่งแยกด้วยตะแกรงขนาดตา $\geq$1.0 และ $\geq$0.5 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95% แต่ในความเป็นจริงการใช้ตะแกรงขนาดตา $\geq$0.5 มิลลิเมตร ทำให้พบสปีชีส์เพิ่มขึ้น 12 สปีชีส์ และเก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ซึ่งตัวเต็มวัยมีขนาดเล็กและลูกสัตว์วัยอ่อนได้เพิ่มขึ้น 38,264 ตัว การเลิกใช้ตะแกรงขนาดตา 0.5 มิลลิเมตร ทำให้การประเมินจำนวนสปีชีส์และจำนวนตัวต่ำกว่าความเป็นจริงเพราะมีสัตว์หน้าดินวัยอ่อนและที่มีขนาดเล็กหลุดรอดไปได้ ดังนั้น การใช้สถิติในการประเมินข้อมูลทางชีวภาพในธรรมชาติในบางกรณีจึงควรพิจารณาอย่างรอบคอบก่อนตัดสินใจนำผลไปปฏิบัติ การนำผลการศึกษาไปปฏิบัติต้องคำนึงถึงความแตกต่างของแหล่งที่อยู่อาศัย คุณภาพน้ำ คุณลักษณะตะกอนดิน และฤดูกาล นอกจากนี้ยังต้องพิจารณาขนาดของอุปกรณ์เก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่และประการสำคัญจะต้องสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ด้วย

นอกจากนี้ แม้ว่าทะเลสาบสงขลาตอนในเป็นแหล่งน้ำกร่อยที่น้ำมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มช่วงกว้างมาก แต่พบว่ามีสัตว์น้ำหน้าดินที่สามารถแพร่กระจายได้อย่างกว้างขวาง และมีปริมาณมากอยู่หลายชนิด แสดงว่าสัตว์น้ำหน้า

ดินเหล่านี้มีความสามารถในการปรับตัวได้อย่างดีและคงที่แล้ว และอาจจะเป็นแหล่งอาหารหลักของสัตว์น้ำอื่นๆ ที่มีขนาดใหญ่กว่า ดังนั้น หากจะมีการพัฒนาทะเลสาบสงขลาเพื่อการใช้ประโยชน์ หรือเพื่อให้คงอยู่ยั่งยืน ควรจะต้องพิจารณาและทำการศึกษาให้รอบคอบเสียก่อน มิฉะนั้น ความหวังดีอาจก่อให้เกิดผลเสียหายได้เช่นกัน

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และรหัสโครงการ BRT 142016 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญจาก Natural History Museum, England (Dr. Gordon Paterson and Dr. Alexander Ian Muir), Plymouth Marine Laboratory, England (Dr. Mike Kendall), Coastal Museum of Natural History, Yokohama National University (Dr. Eijiroh Nishi) และ Department of Ecologia Acuatica, Mexico (Dr. Sergio I. Salazar-Vallejo) ที่กรุณาตรวจความถูกต้องในการจำแนกพวก Polychaeta และขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญจาก Museum National D'Histoire Naturelle "Grigore Antipa", Romania (Dr. Modest Gutu) และ Natural History Museum, England (Dr. Roger Bamber) ในการตรวจสอบความถูกต้องของการจำแนกสปีชีส์ของ Tanaidacea และผู้เชี่ยวชาญจาก Department of Zoology and Animal Ecology, University College, Cork, Ireland (Dr. Alan A. Myers) และ Australian Museum (Dr. Jim Lowry) ในการตรวจความถูกต้องของ Amphipoda

ขอขอบคุณ คุณไพโรจน์ สิริมนตาภรณ์ คุณรังสรรค์ ฉายากุล และคุณยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร ที่ได้ให้ความรู้และช่วยเหลือในการจำแนกตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ คุณจีรวัฒน์ ใจหลัก และคุณอภิชาติ พงษานุกูลเวช ที่ช่วยปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม เจ้าหน้าที่ของศูนย์พัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยตอนล่างและภาควิชาวาริชศาสตร์ที่ช่วยงานในภาคสนาม และขอขอบคุณสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งที่อนุเคราะห์เรือสำรวจ พร้อมทั้งเจ้าหน้าที่ขับเรือ และเขตห้ามล่าสัตว์ป่าทะเลสาบสงขลาที่เอื้อเฟื้อที่พัก

## เอกสารอ้างอิง

กองภูมิอากาศ. 2532. ภูมิอากาศน่ารู้. กรมอุตุนิยมวิทยา กระทรวงคมนาคม กรุงเทพฯ.

ณรงค์ ณ เชียงใหม่. 2522. รายงานผลการวิจัยโครงการทะเลสาบสงขลา พ.ศ.2521-2522. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่.

ไพโรจน์ สิริมนตาภรณ์ และคณิต ไชยาคำ. 2525. การศึกษานิเวศวิทยาในทะเลสาบสงขลา. รายงานผลงานทางวิชาการปี 2525. สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา กรมประมง: 206-214.

ไพโรจน์ สิริมนตาภรณ์, สุชาติ วิเชียรสรรค์ และสุจิตรา กระบวนรัตน์. 2520. การศึกษาชนิดและปริมาณเบนโทสในทะเลสาบสงขลา. รายงานผลการปฏิบัติงานทางวิชาการประจำปี 2520. สถานีประมงจังหวัดสงขลา กรมประมง: 312-330.

ไพโรจน์ สิริมนตาภรณ์, สุชาติ วิเชียรสรรค์ และสุจิตรา กระบวนรัตน์. 2521. การศึกษาชนิดและปริมาณเบนโทสในทะเลสาบสงขลา. รายงานผลการปฏิบัติงานทางวิชาการประจำปี 2521 สถานีประมงจังหวัดสงขลา กรมประมง: 322-340.

ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร และนิคม ละอองศิริวงศ์. 2540ก. การเปลี่ยนแปลงและความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพตะกอนดินกับสัตว์หน้าดินในทะเลสาบสงขลา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2540. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา: 37 หน้า.

ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร และนิคม ละอองศิริวงศ์. 2540ข. การเปลี่ยนแปลงและความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำกับแพลงก์ตอนพืชในทะเลสาบสงขลา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2540. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา: 49 หน้า.

สวัสดิ์ วงศ์สมนึก และสมชาติ สุขวงศ์. 2512. การสำรวจความชุกชุมและการแพร่กระจายของเบนโทสในทะเลสาบสงขลาปี 2512. รายงานประจำปี 2512 สถานีประมงทะเลสงขลา กรมประมง: 69-100.

สวัสดิ์ วงศ์สมนึก และสมชาติ สุขวงศ์. 2513. การสำรวจความชุกชุมและการแพร่กระจายของเบนโทสในทะเลสาบสงขลาปี 2513. รายงานประจำปี 2513 สถานีประมงทะเลสงขลา กรมประมง: 231-243.

สมศักดิ์ มณีพงศ์ และสุภาพร รักเขียว. 2541. รายงานการวิจัยเรื่อง การศึกษาสมบัติทางเคมีของตะกอนในทะเลน้อยและทะเลหลวง. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่: 72 หน้า.

อังสุนีย์ ชุณหปราณ, จุฬาภรณ์ รัตนไชย และอาภรณ์ มีชูขันธ์. 2539. ประเมินผลการจับสัตว์น้ำจากทะเลสาบสงขลาปี 2537-2538. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2539. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา: 32 หน้า.

Ajao, E. A. and S. O. Fagade. 1990. The ecology of *Capitella capitata* in Lagos Lagoon, Nigeria. *Archiv fur Hydrobiologie* 120: 229-239.

Amio, M. 1979. Macrobenthos and Aquatic Animals. Report on the Effect of Waste-water Effluent from Sewage Disposal Plant in Takamatsu City to Fishing Grounds. Research Organization on the Effect of Waste Water Effluent from Sewage Disposal Plant in Takamatsu City to Fishing Grounds. Takamatsu. (in Japanese).

Angsupanich, S. and R. Kuwabara. 1995. Macrobenthic fauna in Thale Sap Songkhla, a brackish lake in southern Thailand. *Lake & Reservoirs: Research Management* 1: 115-125.

Angsupanich, S. and R. Kuwabara. 1999. Distribution of macrobenthic fauna in Phawong and U-Taphao canals flowing into a lagoonal lake, Songkhla, Thailand. *Lakes & Reservoirs: Research Management* 4: 1-13.

Brohmanonda, P. and P. Sungkasem. 1982. Lake Songkhla in Thailand. Report of Training Course on Seabass Spawning and Larval Rearing. Held in Songkhla, Thailand during 1-20 June 1982. UNDP/FAO.

Chatupote, W., S. Maneepong and S. Matsumoto. 1994. Dynamics of soil nutrients in sediment. *In* S. Angsupanich and Y. Aruga (eds.), Ecosystem Dynamics of the Outer Songkhla Lake, Southern Thailand, pp. 137-153. Nodai Center for International Programs, Tokyo University of Agriculture, Tokyo.

Dauer, M. D. 1993. Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic community structure. *Marine Pollution Bulletin* 26: 249-257.

Eleftheriou, A. and N. A. Holme. 1984. Macrofauna techniques. *In* N. A. Holme and A. D. McIntyre (eds.), Methods for the Study of Marine Benthos 2d ed, pp.140-216. Melbourne: Blackwell Scientific Publications.

Elliott, J. M. 1977. Some Methods for the Statistical Analysis of Samples of Benthic Invertebrates. Freshwater. Biological. Association. Scientific. Publication. No. 25. U.K.: Ferry House.

Ferraro, S. P. and F. A. Cole. 1992. Taxonomic level sufficient for assessing a moderate impact on macrobenthic communities in Puget Sound, Washington, USA. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49: 1184-1188.

Ferraro, S. P., R. C. Swartz, F. A. Cole and W. A. Deben. 1994. Optimum macrobenthic sampling protocol for detecting pollution impacts in the Southern California Bight. *Environmental Monitoring and Assessment* 29: 127-153.

Gamito, S. and D. Raffaelli. 1992. The sensitivity of several ordination methods to sample replication in benthic surveys. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 164: 221-232.

Gee, G. W. and J. W. Bauder. 1986. Particle-size analysis. *In* A. Klute (ed.), Methods of Soil Analysis, Part 1 : Physical and Mineralogical Methods-Agronomy Monograph no. 9 2nd, pp. 539-577. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Wisconsin.

Gray, J. 1981. The Ecology of Marine Sediments. Cambridge University Press.

Green, R. H. 1980. Comment on optimal survey design. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 288-296.

Kikuchi, T. 1991. Macrobenthic succession in the organically polluted waters and ecological characteristics of some pollution indicators species. *In* J. Mauchline and T. Nemoto (eds.), Marine Biology Its Accomplishment and Future Prospect, pp. 144-163. Hokusensha, Tokyo.

Lake Biwa Research Institute and International Lake Environment Committee. 1989. Data Book of World Lake Enviroments-A Survey of the State of World Lakes-Vol. II. International Lake Environment Committee, United Nations Environment Programme, Otsu. Japan.

McIntyre, A. D., J. M. Elliott and D. V. Ellis. 1984. Introduction: Design of sampling programmes. *In* N. A. Holme and A. D. McIntyre (eds.), Methods for the Study of Marine Benthos, pp. 1-26. Blackwell Scientific Publications, London.

Nelson, D. W. and L. E. Sommer. 1982. Organic matter. *In* A. L. Page, R. H. Miller and D. R. Keeney. (eds.), Methods of Soil Analysis Part 2: Chemical and Biological Properties-Agronomy Monograph no. 9 2nd, pp. 539-577. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Wisconsin.

Pals, G. and E. Pauptit. 1979. Oxygen binding properties of the coelomic haemoglobin of the polychaete *Heteromastus filiformis* related with some environmental factors. *Netherlands Journal of Sea Research* 13: 581-92.

Rakkheaw, S. 1994. Water quality. *In* S. Angsupanich and Y. Aruga (eds.), Ecosystem Dynamics of the Outer Songkhla Lake, Southern Thailand, pp. 12-47. Nodai Center for International Programs, Tokyo University of Agriculture, Tokyo.

Rosenberg, R., L. O. Loo and P. Moler. 1992. Hypoxia, salinity and temperature as structuring factors for marine benthic comunities in a eutrophic area. *Netherlands Journal of Sea Research* 30: 121-129.

Warwick, R. M. and K. R. Clarke. 1991. A comparison of some methods for analyzing changes in benthic community structure. *Journal of Marine Biological Association* 71: 225-244.

Yakokawa, T. 1984. Report on Aquaculture Ground Survey of Songkhla Lake. National Institute of Coastal Aquaculture, Songkhla, Thailand.

# ฟอแรมมินิเฟอร่าน้ำกร่อยในยุคปัจจุบันจากภาคใต้ของประเทศไทย

**จรรยา จำนงค์ไทย และนารี โชติกวณิชย์**

ฝ่ายโบราณชีววิทยา กองธรรณีวิทยา กรมทรัพยากรธรณี เขตราชเทวี กรุงเทพ 10400

**Abstract: Recent Brackish Foraminifera from Southern Peninsular Thailand**

Brackish foraminifera, which are members of the Protozoa, were collected from 39 localities along the Andaman Sea coast, ranging from Ranong, Phang nga, Phuket, Krabi, Trang to Satun provinces, yielding 54 genera and 92 species. Most were benthonic. Planktonic foraminifera were very rare. They live in low salinity conditions (not more than 4 parts per thousand) in shallow water. Foraminifera in mangrove swamps were represented by *Arenoparella mexicana, Haplophragmoides wilberti, Miliammina fusca, Ammotium* spp., *Reophax* spp., *Remaneica helgolandica, Trochammina inflata, Trochammina* spp., *Ammobaculites* spp., *Lituola* sp., *Textularia earlandi* and *Tiphotrocha comprimata*. These species have an areaceous test. Some species with calcareous tests were found in mangrove swamps, but they were are very rare.They included *Helenina anderseni, Nonion scaphum* and *Ammonia beccarii*. Brackish foraminifera found in beach sand were represented by *Ammonia beccarii*, *Elphidium* spp. and *Pararotalia nipponica*. All of them have calcium carbonate tests. Substrate is a factor controlling this assemblage. Diversities of foraminifera in Ranong and Phang nga are low while those in Satun are high.

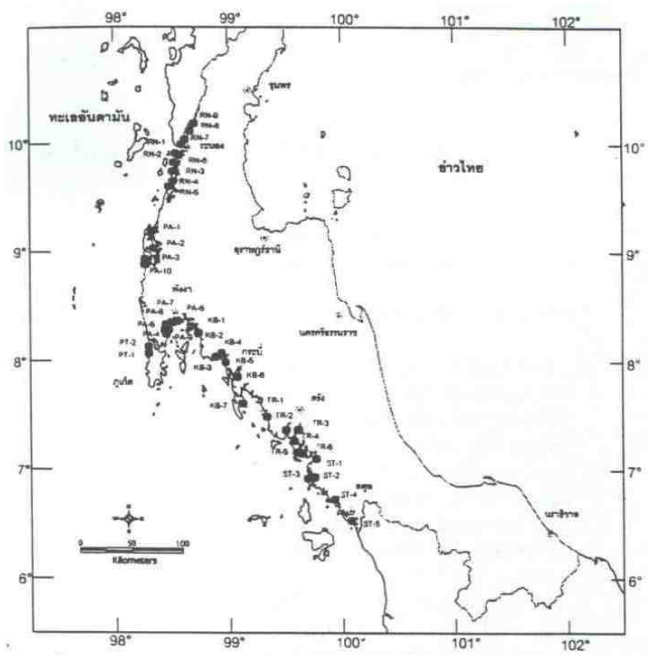
**Key words:** brackish foraminifera, arenaceous test, calcareous test

## บทนำ

ฟอแรมมินิเฟอร่า หรือเรียกสั้นๆ ว่า ฟอแรม เป็นสัตว์เล็กมีขนาด 0.1–2.0 มิลลิเมตร จัดอยู่ในไฟลัมโปรโตซัว คลาสซาร์โคไดนา ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในน้ำทะเล พบในน้ำกร่อยบ้าง ในน้ำจืดจะพบค่อนข้างน้อย มีรูปร่างแบ่งเป็นห้องๆ บางชนิดอาจมีห้องเดียวหรือหลายห้อง เปลือกประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ซิลิกา และไคติน บนเปลือกมีรูพรุนมากมาย ฟอแรมเป็นสัตว์ที่เกิดขึ้นตั้งแต่ยุคออร์โดวิเชียน แต่บางท่านคาดว่าอาจมีอายุแก่ถึงยุคแคมเบรียนซึ่งมากกว่า 500 ล้านปีมาแล้ว และมีวิวัฒนาการมาจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากลักษณะเปลือกที่แข็งทำให้พบเห็นเป็นฟอสซิลได้ ในยุคแรกๆ มีจำนวนฟอแรมไม่มากนัก จนถึงยุคคาร์บอนิเฟอรัสและเปอร์เมียน ประมาณ 350–225 ล้านปีมาแล้ว จะพบฟอแรมมากมายโดยเฉพาะฟูซูลินิดซึ่งมีขนาดใหญ่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีขนาดน้อยกว่า 1-5 เซนติเมตร พบฟอสซิลของฟูซูลินิดมากมายในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดสระบุรี ลพบุรี เพชรบูรณ์ เลย และปราจีนบุรี ลักษณะคล้ายเม็ดข้าวสารยาวรี แต่บางชนิดมีลักษณะกลม ฟูซูลินิดสูญพันธุ์ตอนปลายยุคเปอร์เมียน ฟอสซิลมีประโยชน์อย่างมากในทางธรณีวิทยา เพราะเป็นตัวบอกอายุของหินได้ ซึ่งสำคัญมากต่อการทำแผนที่ธรณีวิทยา

ในยุคแรกๆ ฟอแรมเป็นพวกอาศัยบนผิวดินตะกอนใต้น้ำ จนกระทั่งตอนกลางของยุคจูราสซิค ประมาณ 150 ล้านปีมาแล้ว จึงเริ่มมีฟอแรมล่องลอยบนผิวน้ำ และมีมากขึ้นในยุคครีเตเชียส ประมาณ 130 ล้านปีจนถึงปัจจุบัน ฟอแรมที่อาศัยบนผิวดินตะกอนใต้น้ำนี้มีประโยชน์ในการบอกสภาพแวดล้อมในขณะที่อาศัยอยู่ เช่น ความลึกของน้ำ ความเค็ม เป็นต้น สำหรับฟอแรมที่ลอยตามผิวน้ำมักพบในทะเลเปิดจนถึงทะเลลึก เปลือกของฟอแรมชนิดนี้ซึ่งเป็นแคลเซียมคาร์บอเนตจะถูกสลายในขณะที่ร่วงจากผิวน้ำลงสู่เบื้องล่าง ฟอแรมนี้มีวิวัฒนาการรวดเร็วพบแพร่หลายทั่วไป รวมทั้งที่ก้นสมุทร ทำให้เป็นประโยชน์มากในการบอกตำแหน่งของชั้นหิน ในปี ค.ศ.1951 ฟอแรมชนิดที่ล่องลอยตามผิวน้ำถูกใช้ในด้านธรณีวิทยาอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในการสำรวจน้ำมัน ฟอสซิลที่มีขนาดเล็กเหล่านี้ใช้เปรียบเทียบชั้นหินจากหลุมเจาะหนึ่งไปยังอีกหลุมเจาะหนึ่ง (Bergen, 1983) เพื่อแปลความหมายทางด้านสิ่งแวดล้อมโบราณ ใช้ในการหาอายุของหิน และมีประโยชน์มากในบริเวณชั้นหินที่มีโครงสร้างการวางตัวสับสน ไม่ต่อเนื่อง หรือมีการวางตัวของชั้นหินซ้ำกันมากในแนวตั้ง หรือในบริเวณที่เกิดรอยเลื่อน การคดโค้งของหินยุ่งยากหรือชั้นหินมีความหนามากๆ ฟอสซิล

ขนาดเล็กนี้จะบ่งชี้ถึงความเค็ม ความลึก อุณหภูมิ และออกซิเจนในน้ำขณะที่ตะกอนสะสมตัว เป็นประโยชน์ในแง่ที่ทำให้ทราบถึงการเกิดของน้ำมันและก๊าซ ทราบถึงการวางตัวของแอ่งดินตะกอน



ภาพที่ 1. จุดเก็บตัวอย่างดินตะกอนตามแนวชายฝั่งทะเลอันดามัน

บุคคลสำคัญในอดีตที่ศึกษาฟอแรม คือ Alcide d' Orbigny (ค.ศ.1802–1857) ซึ่งได้ชื่อว่าเป็น Father of Micropaleontology ได้รายงานในเอกสารมากมายเกี่ยวกับฟอแรม และ C.G.Ehrenberg (ค.ศ.1795–1876) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสัตว์ขนาดเล็ก และรายงานในเอกสารเกี่ยวกับฟอแรม ออสตราคอด และไดอะตอม Haga (1964) ศึกษาฟอแรมในดินตะกอนของอ่าวไทย Frerichs (1967) ศึกษาฟอแรมในดินตะกอนของทะเลอันดามัน Matoba (1970) ศึกษาฟอแรมในน้ำตื้นทางตะวันออกเฉียงเหนือของญี่ปุ่น และ Jumnongthai (1999) ศึกษาฟอแรมในน้ำกร่อยจากภาคใต้ชายฝั่งของอ่าวไทย Boltovskoy and Wright (1976) มีผลงานเกี่ยวกับฟอแรมที่ครอบคลุมเนื้อหาในหลายด้านเหมาะสำหรับผู้เริ่มต้นทำความเข้าใจ การศึกษาฟอแรมในน้ำกร่อยจากภาคใต้ของไทยครั้งนี้ได้ใช้การจัดจำแนกของ Loeblich and Tappan (1964) เป็นหลัก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายและปริมาณของฟอแรมในน้ำกร่อยที่พบในดินตะกอนบริเวณ 6 จังหวัดของภาคใต้ ทางด้านทะเลอันดามันตั้งแต่จังหวัดระนอง พังงา ภูเก็ต กระบี่ ตรัง และสตูล

## วิธีการ

เก็บตัวอย่างดินตะกอนจากแหล่งน้ำกร่อยบริเวณป่าชายเลนและชายหาด ประมาณ 1 กิโลกรัมต่อ 1 แหล่ง จำนวน 39 แหล่ง (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1) บันทึกค่าความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ความลึกของน้ำ เวลา และตำแหน่งโดยเครื่อง Magellan–NAV 5000 PRO (GPS) ร่อนโคลนออกจากตัวอย่างโดยใช้ wet seive ตะแกรงขนาด 200 mesh และทำให้แห้ง กรณีถ้าดินตะกอนจับตัวแข็งมากต้องใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10% จำนวนเล็กน้อยเพื่อช่วยให้ดินตะกอนแตกตัวเร็วขึ้น แบ่งดินตะกอนไปวิเคราะห์หาค่า total sulfide และฟอสเฟต ตรวจหาฟอแรมมินิเฟอร่าด้วยกล้องจุลทรรศน์ คัดเลือกตัวอย่างฟอแรมที่น่าสนใจ และถ่ายรูปด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope

## ผลการวิจัย

ผลจากการเก็บตัวอย่าง 39 แหล่ง พบว่ามีฟอแรมมินิเฟอร่า 34 แหล่ง สามารถจำแนกได้ 31 วงศ์ 54 สกุล และ 92 ชนิด เปลือกของฟอแรมมี 2 ลักษณะ คือ ประกอบด้วยซิลิกาหรือ arenaceous มี 44 ชนิด และเปลือกที่ประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตหรือ calcareous มี 48 ชนิด เกือบทั้งหมดเป็นสัตว์เล็กๆ อาศัยบนดินตะกอนใต้น้ำ (benthonic) แต่ในบางพื้นที่ซึ่งติดต่อกับทะเลเปิด จะมีพวกที่ลอยตามผิวน้ำ (planktonic) ปะปนบ้างเล็กน้อย ตัวอย่าง PT2 ท่าฉัตรไชย จังหวัดภูเก็ต เป็นบริเวณเดียวที่พบ planktonic คือ *Globigerina rubescens* และ *Orbulina universa* ทั้งสองชนิดมีเปลือกเป็น calcareous ขนาดเล็กและมีเพียงชนิดละ 1 ตัวเท่านั้น

ในการศึกษาครั้งนี้นอกจากฟอแรมแล้ว ยังพบสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในดินตะกอน ได้แก่ ไดอะตอม ออสตราคอด เพรียง เกล็ดปลา กระดูกปลา ฟันปลา arcella และ charophyte

ตารางที่1. ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างดินตะกอน

| Station | Latitude N | Longitude E | Station | Latitude N | Longitude E |
|---|---|---|---|---|---|
| RN1 | 09º 57' 4384 | 98º 37 '0680 | PT2 | 08º 11'5116 | 98 º17' 5953 |
| RN2 | 09º 50' 0311 | 98 º35' 0460 | KB1 | 08º 18' 2427 | 98 º43' 1349 |
| RN3 | 09º 43' 4608 | 98 º34' 2876 | KB2 | 08º 08' 5357 | 98º 47' 0411 |
| RN4 | 09º 34' 2337 | 98º 35' 2566 | KB3 | 08 º01 '1239 | 98 º53' 1630 |
| RN5 | 09 º30 '5237 | 98 º31' 4446 | KB4 | 08º 03' 0399 | 98 º55' 2125 |
| RN6 | 09º32' 2449 | 98 º34' 4257 | KB5 | 07º 58' 1679 | 98º 59' 3252 |
| RN7 | 10º 10' 3355 | 98º 42 '5724 | KB6 | 07º 53' 4432 | 99º 06' 1801 |
| RN8 | 10º17' 2191 | 98º 45 '3911 | KB7 | 07º40 '3756 | 99º 13' 0435 |
| RN9 | 10º 19' 0400 | 98º 19' 0400 | TR1 | 07 º28' 0382 | 99º 20' 2036 |
| PA1 | 09º 11' 5032 | 98º 23' 1424 | TR2 | 07º 21' 1042 | 99º 30' 4189 |
| PA2 | 09 º01' 3444 | 98º 24' 5247 | TR3 | 07º 21' 0985 | 99º 38' 1097 |
| PA3 | 08º 53' 2087 | 98º 21' 2314 | TR4 | 07º 15' 5171 | 99º 37' 0301 |
| PA4 | 08º 20 '3627 | 98º 30' 0962 | TR5 | 07º 07' 4411 | 99º 41' 3546 |
| PA5 | 08 º17' 2112 | 98º 30'1356 | TR6 | 07º 07 '5854 | 99º 41' 1721 |
| PA6 | 08º 22' 4406 | 98º 31 '0338 | ST1 | 07º 06 '1742 | 99 º45 '0592 |
| PA7 | 08º 23 '1515 | 98º 27' 4564 | ST2 | 06º 55' 1482 | 99 º45' 0929 |
| PA8 | 08º 18' 5040 | 98º 25' 2590 | ST3 | 06º 55 '1482 | 99º 44' 5008 |
| PA9 | 08º 25' 0095 | 98º 33' 2903 | ST4 | 06 º45' 0828 | 99º 59 '3499 |
| PA10 | 08º 53' 2023 | 98 º21' 2395 | ST5 | 06º 34' 4377 | 100 º03' 5183 |
| PT1 | 08º 09' 1896 | 98º 20 '3605 | | | |

## การแพร่กระจายของฟอแรมมินิเฟอร่าน้ำกร่อย

จากการศึกษาพบว่าดินตะกอนจากจังหวัดระนอง พังงา และตรัง มีปริมาณของฟอแรมไม่มากนัก เมื่อเทียบกับดินตะกอนจากจังหวัดกระบี่ สตูล และภูเก็ต ดินตะกอนจากระนองจะมีปริมาณฟอแรมน้อยที่สุดเฉลี่ย 15/10 ml และดินตะกอนจากกระบี่จะมีปริมาณฟอแรมมากที่สุดโดยเฉลี่ยประมาณ 391/10 ml (ดินตะกอนที่มีฟอแรมมากกว่า 200 ขึ้นไปพบอยู่ 12 แหล่ง)

***ระนอง (RN1-9)***

ฟอแรมมีเปลือกของสารซิลิกาเกือบทั้งหมด พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนตจำนวนเล็กน้อย RN8 พบเปลือกซิลิกาสูงสุด 16 ชนิด 14 สกุล ที่พบจำนวนมาก คือ *Arenoparella mexicana* ขณะที่เปลือกแคลเซียมคาร์บอเนตถูกพบเพียง 1 ชนิด คือ *Ammonia beccarii* ที่ RN1 และ RN4

***พังงา (PA1-10)***

ส่วนใหญ่พบเป็นปลือกซิลิกาเกือบทั้งหมด PA9 พบเปลือกซิลิกา 22 ชนิด 14 สกุล ที่สำคัญ ได้แก่ *Arenoparella mexicana* และ *Trochammina* spp. แต่ไม่พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต PA5 ไม่พบเปลือกซิลิกา แต่พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต 4 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Elphidium crispum*, *Ammonia beccarii*, *Cellanthus* และ *Quinqueloculina* spp. อธิบายได้ว่าในบริเวณนี้แตกต่างจากบริเวณอื่น เนื่องจากเป็นหาดทรายในอ่าวพังงา ขณะที่บริเวณอื่นๆ ดินตะกอนจะเป็นโคลน PA7 พบ *Ammonia beccarii* ด้วยเช่นกัน

***ภูเก็ต (PT1-2)***

PT2 เป็นชายหาดที่ติดต่อกับทะเลเปิด จำนวนฟอแรมมากกว่า 1000/10 ml เป็นเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต 26 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Amphistegina radiata, Elphidium* spp. และ *Pararotalia nipponica* แต่พบเปลือกซิลิกาน้อยมากเพียง 2 ชนิด คือ *Textularia candeiana* และ *Textularia cf. T.conica*

***ตรัง (TR1-6)***

TR4 พบเปลือกซิลิกา 11 ชนิด ที่สำคัญ คือ *Lituola* sp. แต่ไม่พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต TR1 เป็นป่าชายเลนใกล้หาดปากเมง ดินตะกอนส่วนใหญ่เป็นทรายพบเปลือกซิลิกา 8 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Textularia inflata* และ

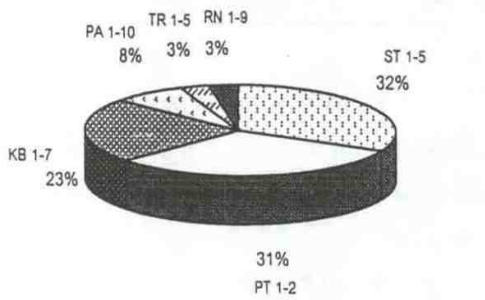
6 ชนิด เป็นเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต TR3 พบเปลือกซิลิกา 8 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Arenoparella mexicana, Miliammina fusca และ Remaneica helgolandica* พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต 2 ชนิด ที่สำคัญ คือ *Helenina anderseni* TR6 เป็นตัวอย่างในบ่อกุ้งไม่พบฟอแรมชนิดใดเลย

***กระบี่ (KB1-7)***

KB1 พบเปลือกซิลิกา 13 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Triloculariena* sp. และ *Trochammina* spp. และเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต 21 ชนิด ที่สำคัญ คือ *Ammonia beccarii* บริเวณนี้ถือเป็นป่าชายเลนที่อุดมสมบูรณ์ KB3 เป็นหาดทราย บริเวณสุสานหอย บ้านแหลมโพธิ์ พบเปลือกซิลิกา 1 ชนิด คือ *Textularia earlandi* แต่พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต 17 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Pararotalia nipponica, Elphidium crispum* และ *Ammonia beccarii* KB6 เป็นป่าชายเลนพบเปลือกซิลิกาทั้งหมด 9 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Trochammina* spp., *Haplophragmoides wilberti* และ *Arenoparella mexicana*

***สตูล (ST1-5)***

ST1 พบเปลือกซิลิกาส่วนใหญ่มี 9 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Arenoparella mexicana, Haplophragmoides wilberti* และ *Trochammina* spp. พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต 1 ชนิด คือ *Triloculina* sp. ST2 เป็นเปลือกซิลิกาทั้งหมด 18 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Arenoparella. mexicana, Haplophragmoides wilberti, Miliammina fusca, Trilocularena* sp. และ *Trochammina* spp. ST3 ส่วนใหญ่เป็นเปลือกซิลิกามี 10 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Ammobaculites* spp., *Ammotium fragile* และ *Miliammina fusca* พบแคลเซียมคาร์บอเนต 1 ชนิด คือ *Ammonia beccarri* ST4 พบเปลือกซิลิกาทั้งหมด 26 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Trochammina inflata, Haplophragmoides wilberti* และ *Arenoparella mexicana* ไม่พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต ST5 พบเปลือกซิลิกา 16 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ *Arenoparella mexicana* และ*Trochammina* spp. พบเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนตเพียง 1 ชนิด คือ *Nonion scaphum*



ภาพที่ 2. สัดส่วนของฟอแรมมินิเฟอร่าน้ำกร่อยในบริเวณจังหวัดระนอง พังงา ภูเก็ต กระบี่ ตรัง และสตูล

ฟอแรมที่พบจากจังหวัดระนอง (RN1-9), พังงา (PA1-10), ภูเก็ต (PT1-2), กระบี่ (KB1-7), ตรัง (TR1-5) และสตูล (ST1-5) คิดเป็นอัตราส่วนร้อยละ 3, 8, 31, 23, 3 และ 32 ตามลำดับ ชนิดและการแพร่กระจายของฟอแรมแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 2

## ดินตะกอนใต้น้ำ

สภาพทางเคมี แร่ธาตุ ความหยาบหรือความละเอียดของดินตะกอนมีผลต่อการแพร่กระจาย และรูปร่างของฟอแรมมินิเฟอร่าที่อาศัยอยู่บนดินตะกอนใต้น้ำ โดยเฉพาะเปลือกซิลิกาจะมีความสัมพันธ์อย่างมากกับสภาพของดินตะกอน สำหรับเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนตจะถูกสร้างโดยวิธีทางเคมี ไม่สัมพันธ์กับสภาพของดินตะกอนมากนัก (Boltovskoy and Wright, 1976) ตัวอย่าง PA5, PT2 และ KB3 จากหาดทรายในอ่าวพังงา ท่าฉัตรไชย จังหวัดภูเก็ต และจากจังหวัดกระบี่นั้น พบว่าส่วนใหญ่ฟอแรมมีเปลือกเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต แต่ตัวอย่างจากป่าชายเลนซึ่งมีดินเลน และเศษพืช จะพบฟอแรมชนิดที่มีเปลือกเป็นซิลิกาเป็นส่วนใหญ่

การหาความสัมพันธ์ระหว่างดินตะกอนใต้น้ำกับเปลือกของฟอแรมมินิเฟอร่าโดยใช้สถิติแบบ nonparametric โดยมีสูตรข้างล่างดังนี้

$r_s$ = the Spearman rank-correlation coefficient

$$= \frac{1-6 \sum ( x_1 - y_1 )^2}{n ( n^2 - 1 )}$$

ST1 คู่กับ PA5 n=15, $r_s$=0.973, ST5 คู่กับ PT2 n=46, $r_s$=0.997 และ ST4 คู่กับ KB3 n=44, $r_s$=0.997 โดย ST1, ST4 และ ST5 เป็นตัวอย่างจากป่าชายเลน ค่า $r_s$ มีค่าสูงแสดงว่าดินตะกอนใต้น้ำมีความสัมพันธ์กับเปลือกของฟอแรมเป็นอย่างมาก บางตัวอย่างที่มีตะกอนเป็นทรายอาจจะไม่พบฟอแรม และพบว่ามักจะอาศัยอยู่ในดินตะกอนที่ละเอียด

ตารางที่ 2. การจัดจำแนกฟอแรมมินิเฟอร่า

| วงค์ | สกุล | ชนิด |
|---|---|---|
| เปลือกซิลิกา | | |
| Lituolidae | *Ammoastuta* | *A. inepta* |
| | Haplophragmoides | *H. cf H. bomplandi* |
| | | *Haplophragmoides* sp. |
| | | *H. wilberti* |
| | *Lituola* | *Lituola* sp. |
| | *Ammotium* | *Ammotium* sp. |
| | | *A. cassis* |
| | | *A. fragile* |
| | | *A. salsum* |
| | *Ammobaculites* | *Ammobaculites* spp. |
| | | *A. agglutinans* |
| | | *A. americanus* |
| | | *A. calcareus* |
| | | A. *exiguus* |
| | *Trochamminita* | *Trochamninita?* |
| | *Ammomarginulina* | *Ammomarginulina* sp. |
| Trochamminidae | *Trochammina* | *Trochammina* spp. |
| | | *T. advena* |
| | | *T. cf. T. hadai* |
| | | *T. inflata* |
| | | *T. cf. T. japonica* |
| | | *T. macrescens* |
| | | *T. nitida* |
| | | *T.squamata* |
| | | *Trochammina* sp.A |
| | *Arenoparella* | *A. mexicana* |
| | *Jadammina* | *J.macrescens* |
| | *Tiphotrocha* | *T. comprimata* |
| | *Trochamminula* | *Trochamminula?* |
| Remaneicidae | *Remaneica* | *R. helgolandica* |
| Textulariidae | *Textularia* | *T. candeiana* |
| | | *T. cf. T. conica* |
| | | *Textularia* sp. |
| | | *T. earlandi* |
| Rzehakinidae | *Miliammina* | *M. fusca* |
| | *Triloculareana* | *Triloculareana* sp. |
| Ammodiscidae | *Ammodiscus* | *Ammodiscus* sp. |
| | *Glomospira* | *Glomospira?* |
| | | *G.gordialis* |
| Hormosinidae | *Reophax* | *Reophax* sp. |
| | | *R.dentaliniformis* |
| | | *R.nodulosus* |
| *Ataxophragmiidae* | *Globotextularia* | *Globotextularia* sp. |
| *Saccamminidae* | *Sorosphaera* | *Sorosphaera?* |

| วงค์ | สกุล | ชนิด |
|---|---|---|
| เปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต | | |
| Eponididae | *Eponides* | *E.repandus* |
| | | *Eponides* sp.A |
| | | *Eponides* sp.B |
| Discorbidae | *Discorbis* | *Discorbis* sp. |
| | *Helenina* | *H. anderseni* |
| | *Rosalina* | *Rosalina* sp. |
| Glabratellidae | *Glabratella* | *G.patelliformis* |
| Cibicididae | *Cibicides* | *C.labatulus* |
| | | *Cibicides* sp. |
| | | *C.wuellerstorfi* |
| Amphisteginidae | *Amphistegina* | *A.radiata* |
| Rotaliidae | *Pararotalia* | *Pararotalia* sp. |
| | | *Pararotalia* sp.A |
| | | *P.nipponica* |
| | | *P.?globosa* |
| | *Ammonia* | *A. beccarii* |
| Elphidiidae | *Elphidium* | *E. crispum* |
| | | *Elphidium* spp. |
| | | *E.somaense* |
| | *Cellanthus* | *Cellanthus craticulatus* |
| Miliolidae | *Quinqueloculina* | *Q.agglutinans* |
| | | *Quinqueloculina* spp. |
| | | *Q.parkeri* |
| | | *Q.reticulata* |
| | | *Q.seminulum* |
| | *Triloculina* | *Triloculina* spp. |
| | | *T.trigonula* |
| | *Miliolinella* | *Miliolinella* sp. |
| | *Pseudomassilina* | *P.australis* |
| | *Massilina* | *Massilina* sp. |
| Bolivinitidae | *Bolivina* | *Bolivina* sp. |
| Nubeculariidae | *Spiroloculina* | *Spiroloculina* sp.A |
| | | *Spiroloculina* sp.B |
| Buliminidae | *Bulimina* | *Bulimina* sp. |
| | *Reusella* | *Reusella* sp. |
| Uvigerinidae | *Siphogenerina* | *Siphogenerina* sp. |
| Globigerinidae | *Globigerina* | *G. rubescens* |
| | *Orbulina* | *O. universa* |
| Asterigerinidae | *Asterigerina* | *A.carinata* |
| Alveolinidae | *Alveolinella* | *A.quoyi* |
| Anomalinidae | *Anomalina* | *A.globulosa* |
| Glandulinidae | *Fissurina* | *Fissurina* sp. |
| Cymbaloporidae | *Cymbaloporella* | *Cymbaloporella?* |
| Nodosariidae | *Lagena* | *L.laevis* |
| Nummulitidae | *Heterostegina* | *H. cf. H.curva* |
| | Nummulites | *Nummulites* sp. |
| Nonionidae | *Nonion* | *N. scaphum* |
| Soritidae | *Peneroplis* | *P. carinatus* |

## ความเค็มของน้ำ

ฟอแรมมินิเฟอร่าส่วนใหญ่จะอาศัยในน้ำทะเลที่มีความเค็มปกติ การเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำบริเวณน้ำตื้น จะมีผลกระทบเพียงเล็กน้อยต่อฟอแรมที่อาศัยตามผิวดินตะกอน แต่ในบริเวณน้ำลึกถ้ามีการเปลี่ยนแปลงความเค็มและอุณหภูมิเพียงเล็กน้อย จะมีผลกระทบอย่างมากต่อฟอแรมที่อาศัยตามผิวดินตะกอน (Murray, 1995)

ในช่วงที่ทำการเก็บตัวอย่างพบว่ามีฝนตกบ่อย ความเค็มของน้ำจึงเจือจางลงจนบางครั้งใกล้จะเป็นน้ำจืด พบความเค็มของน้ำตั้งแต่ 0.2 ในพันส่วน ที่ TR3 และสูงสุด คือ 4 ในพันส่วน ได้แก่ ที่ PA5, PT1, PT2, KB3, KB7, ST1

และ ST2 แบ่งความเค็มของน้ำออกเป็น 8 ระดับ และแสดงความสัมพันธ์กับจำนวนฟอแรม คือ ความเค็ม 0-0.5, 0.6-1.0, 1.1-1.5, 1.6-2.0, 2.1-2.5, 2.6-3.0, 3.1-3.5 และ 3.6-4.0 ในพันส่วน (น้ำจืด) พบว่ามีจำนวนฟอแรม 39-165, 37-503, 20, 15-873, 49-254, 7-527, 15-1,534 และ 25-1,052 ตามลำดับ จะเห็นว่าจำนวนของฟอแรมมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเค็มของน้ำสูงขึ้น

**ค่าความเป็นกรด–ด่าง (pH)**

ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำจากจังหวัดระนองและพังงาจะมีค่าต่ำ พบต่ำที่สุดที่ RN8 และ RN9 คือ 6.5 และสูงที่สุดที่ ST1 คือ 8.5 โดยแบ่งระดับของ pH เป็น 4 ระดับ และแสดงความสัมพันธ์กับจำนวนฟอแรมมินิเฟอร่า ดังนี้คือ ค่า pH 6.5-7.0, 7.1-7.5, 7.6-8.0 และ 8.1-8.5 พบว่ามีจำนวนฟอแรมเฉลี่ย 76, 140, 280 และ 585 ตามลำดับ จะเห็นว่าจำนวนฟอแรมมีค่าสูงขึ้นเมื่อค่า pH สูงขึ้น

**ปริมาณ Total Sulfide และฟอสเฟต**

Total sulfide ในดินตะกอน ถ้าพบในปริมาณมาก จะทำให้เกิดสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการอยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตเล็กๆ พบค่า Total sulfide ต่ำสุดในดินตะกอนจากภูเก็ต คือ 0.02% และสูงสุดที่จังหวัดพังงา คือ 3.47% เนื่องจากอ่าวพังงาเป็นน้ำขัง มีสีเขียวเข้ม และเศษพืชสะสมอยู่มาก จึงทำให้ค่า Total Sulfide สูง นอกจากนี้ พบว่าดินตะกอนจากจังหวัดระนองและกระบี่มีค่าต่ำเช่นกัน

ฟอสเฟตในดินตะกอนมีค่าอยู่ระหว่าง 0.01-0.09% ซึ่งดินตะกอนจากจังหวัดระนองและสตูลมีค่าสูงสุด ขณะที่ดินตะกอนจากภูเก็ตจะมีค่าต่ำสุด และพบดินตะกอนจากจังหวัดพังงา กระบี่ และตรัง มีค่าค่อนข้างสูง ซึ่งไม่สัมพันธ์กับจำนวนฟอแรมที่พบ แต่อาจมีผลต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ที่ใหญ่กว่าฟอแรม เช่น ปู เป็นต้น

**ความหลากหลายของฟอแรมมินิเฟอร่า**

ความหลากหลายของฟอแรมในบริเวณน้ำกร่อยมีค่าต่ำ จะมีค่าสูงขึ้นในน้ำทะเลที่มีความเค็มปกติ และเพิ่มขึ้นเมื่อความลึกของน้ำเพิ่มขึ้น จนถึงจุดสูงสุดที่ความลึกประมาณ 200-1000 เมตรหรือ Upper bathyal (Buzas and Gibson, 1969) ในแต่ละแหล่งที่ศึกษาจะพบปริมาณและชนิดของฟอแรมแตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ข้างต้น สูตรที่ใช้ในการหาค่าความหลากหลายของฟอแรม คือ Shannon–weaver diversity index ดังนี้: $H = -\sum p_i Lnp_i$ โดย H = diversity index และ $p_i$ = สัดส่วนปริมาณของชนิดที่ i ในตัวอย่าง

***ระนอง–พังงา–ภูเก็ต***

ดินตะกอนจากจังหวัดระนอง (RN1-9) จะมีฟอแรมจำนวนน้อย บางตัวอย่างน้อยกว่า 20 ส่วนใหญ่มีเปลือกซิลิกา มีจำนวนชนิดตั้งแต่ 4-16 และความหลากหลาย 1.14-1.87

ดินตะกอนจากจังหวัดพังงา (PA1-10) มีความแตกต่างในจำนวนของฟอแรม บางตัวอย่างน้อยกว่า 10 ในขณะที่บางตัวอย่างมากกว่า 500 พบว่ามีจำนวนชนิดตั้งแต่ 4-22 ความหลากหลายอยู่ในช่วง 0.47-2.25 ส่วนใหญ่จะเป็นเปลือกซิลิกายกเว้น PA5 ที่มีเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต

ดินตะกอนจากจังหวัดภูเก็ต (PT1-2) จำนวน 2 ตัวอย่าง แต่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน PT1 ได้จากป่าชายเลน มีจำนวนฟอแรมน้อยกว่า 10 ขณะที่ PT2 ได้จากหาดทราย พบฟอแรมเป็นจำนวนมากเกิน 1,000 และส่วนใหญ่จะเป็นเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต PT1 พบ 7 ชนิด ค่าความหลากหลาย 1.50 PT2 พบ 28 ชนิด ค่าความหลากหลาย 2.26

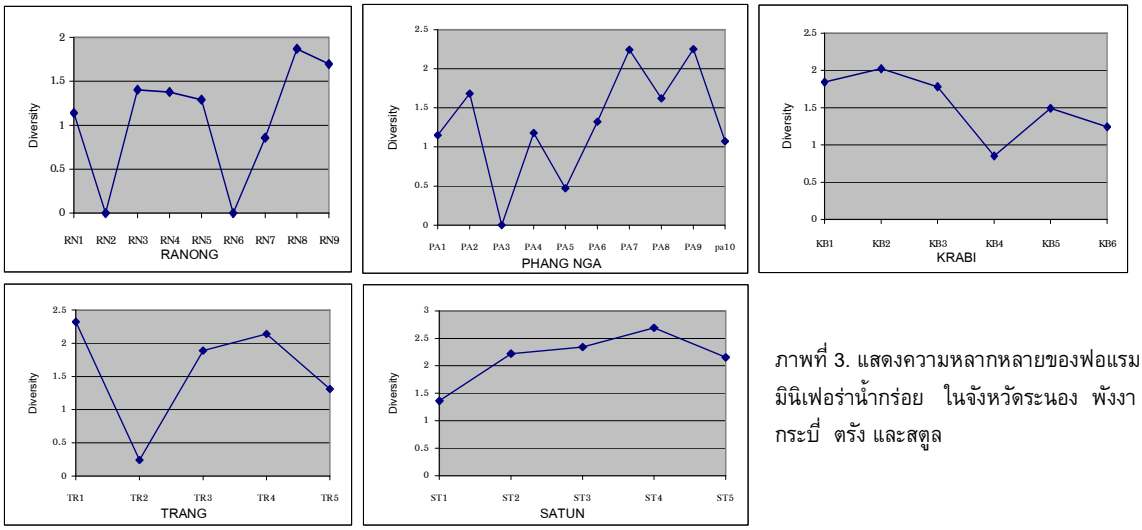
***กระบี่–ตรัง–สตูล***

ดินตะกอนจากจังหวัดกระบี่ (KB1-7) ที่น่าสนใจ ได้แก่ KB1 และ KB3 ซึ่งพบฟอแรมเป็นจำนวนมาก ค่าความหลากหลายตั้งแต่ 0.85-2.02 มีจำนวนชนิด 4-34 KB1 ได้จากป่าชายเลนแต่พบว่ามีฟอแรมเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนตจำนวนมากถึง 21 ชนิด ส่วน KB3 ได้จากหาดทราย พบว่ามีเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนตจำนวนมาก แต่เปลือกซิลิกาน้อยมาก

ดินตะกอนจากจังหวัดตรัง (TR1-6) พบจำนวนฟอแรมน้อย มีความหลากหลายตั้งแต่ 0.24-2.32 และจำนวนชนิด 3-13

ดินตะกอนจากจังหวัดสตูล (ST1-5) เป็นบริเวณที่น่าสนใจ เนื่องจากพบฟอแรมจำนวนมาก และค่าความหลากหลายสูงตั้งแต่ 1.3-2.69 โดย ST4 มีค่าสูงสุด ส่วนใหญ่มีเปลือกซิลิกาและมีจำนวนชนิดตั้งแต่ 10-26

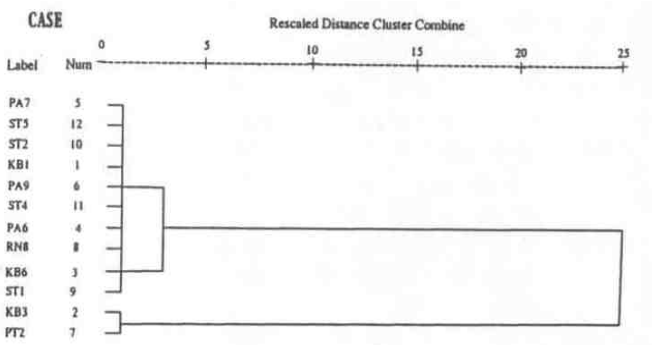
โดยทั่วไปแล้วแสดงให้เห็นว่า ถ้ามีจำนวนชนิดสูง จะมีค่าความหลากหลายสูงด้วย แต่บางครั้งการกระจายตัวของแต่ละชนิดอย่างสม่ำเสมอ ไม่กระจุกตัวที่ชนิดใดชนิดหนึ่ง จะมีค่าความหลากหลายสูงกว่า ค่าความหลากหลายของฟอแรมแสดงในภาพที่ 3




ภาพที่ 3. แสดงความหลากหลายของฟอแรมมินิเฟอร่าน้ำกร่อย ในจังหวัดระนอง พังงา กระบี่ ตรัง และสตูล

## การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม

ผลจากการวิจัยพบว่ามี 12 แหล่ง ที่มีจำนวนฟอแรมมินิเฟอร่ามากกว่า 200 ตัว ซึ่งเหมาะสมกับการหาค่าทางสถิติ ได้แก่ RN8, PA6, PA7, PA9, PT2, KB1, KB3, KB6, ST1, ST2, ST4 และ ST5 จากการใช้ Program SPSS ช่วยในการจัดกลุ่ม (Cluster analysis) ของแหล่งต่างๆ โดยใช้สกุลของฟอแรมเป็นหลักสำคัญ สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย KB3 และ PT2 ซึ่งดินตะกอนเป็นทรายจากชายทะเล เป็นเปลือกชนิดแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นส่วนใหญ่ และมี 10 สกุลที่อยู่ร่วมกัน คือ *Ammonia, Bolivina, Cellanthus, Elphidium, Glabratella, Pararotalia, Peneroplis, Quinqueloculina* และ *Triloculina* มีเปลือกซิลิกาเพียง 1 สกุล ได้แก่ *Textularia* และกลุ่มที่ 2 เป็นฟอแรมที่พบในป่าชายเลน จำนวน 10 แหล่ง แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย คือ 1) ประกอบด้วย PA7, ST5, ST2 และ KB1 มี 9 สกุล ได้แก่ *Ammobaculites, Ammoastuta, Ammotium, Arenoparella, Haplophragmoides, Lituola, Miliammina, Triloculareena* และ *Trochammina* เปลือกเป็นซิลิกาทั้งหมด 2) ประกอบด้วย PA9, ST4, PA6, RN8 และ KB6 มี 5 สกุล ได้แก่ *Ammobaculites, Arenoparella, Miliammina, Remaneica* และ *Trochammina* เปลือกเป็นซิลิกาทั้งหมด และ 3) ST1 เป็นเพียงแหล่งเดียวในกลุ่มนี้ ประกอบด้วย *Arenoparella, Haplophragmoides, Lituola, Miliammina, Remaneica, Reophax, Triloculareena, Trochammina* และ *Trochamminita?* มีเปลือกเป็นซิลิกาทั้งหมด แสดงในภาพที่ 4




ภาพที่ 4. Cluster analysis จาก 12 แหล่ง โดยใช้ SPSS

## บทสรุป

ผลงานวิจัยฟอแรมมินิเฟอร่าน้ำกร่อยนี้ สามารถจำแนกเป็น 31 วงศ์ 54 สกุล 92 ชนิด โดยมีเปลือกเป็นซิลิกา 44 ชนิด และเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนต 48 ชนิด เกือบทั้งหมดเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่บนผิวดินใต้น้ำ ยกเว้นเพียง 2 ชนิด ที่เป็นสัตว์ที่ลอยตามผิวน้ำ สามารถแบ่งฟอแรมเป็นสองกลุ่มใหญ่ คือ พวกอาศัยในดินตะกอนป่าชายเลน และพวกที่อาศัยบนดินตะกอนที่เป็นทราย โดยพวกอาศัยในป่าชายเลนส่วนใหญ่จะมีเปลือกเป็นซิลิกา มี 12 ชนิด ได้แก่ *Arenoparella mexicana, Haplophragmoides wilberti, Miliammina fusca*, *Ammotium* spp., *Reophax* spp., *Remaneica helgolandica, Trochammina inflata*, *Trochammina* spp., *Ammobaculites* spp., *Lituola* sp., *Textularia earlandi, Tiphotrocha comprimata* และชนิดที่มีจำนวนมากและพบบ่อย ได้แก่ *A. mexicana, H. wilberti* และ *Trochammina* spp. พบฟอแรมเปลือกแคลเซียมคาร์บอเนตจำนวนน้อยชนิดและปริมาณในป่าชายเลน ซึ่งเป็นน้ำกร่อยมีความเค็มของน้ำต่ำ เช่น *Ammonia beccarii, Helenina anderseni* และ *Nonion scaphum* ส่วนพวกที่อาศัยอยู่บนหาดทรายจะมีเปลือกเป็นคาร์บอเนต ได้แก่ *Ammonia beccarii, Elphidium* spp. และ *Pararotalia nipponica*

ปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่กระจายของฟอแรมน้ำกร่อย ได้แก่ ชนิดของตะกอนใต้น้ำ สภาพมลภาวะ ความเค็ม และค่าความเป็นกรด–ด่างของน้ำ จำนวนและชนิดของฟอแรมขึ้นอยู่กับปัจจัยเหล่านี้ ความหลากหลายของฟอแรมในบริเวณจังหวัดระนอง และพังงา มีค่าน้อย เมื่อเทียบกับในบริเวณสตูล ซึ่งมีความหลากหลายสูงกว่า นอกจากนี้ ยังพบสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในดินตะกอน ได้แก่ Ostracod, diatom charophyte, arcellaceans, เกล็ดปลา, กระดูกปลา และเพรียง สิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ที่พบในบริเวณศึกษา ได้แก่ ปูแสม ปูก้ามดาบ หอยเสฉวน และปลาตีน พืชที่พบ ได้แก่ ต้นโกงกาง ต้นลำพู ต้นจาก ต้นเหงือกปลาหมอ และผักบุ้งทะเล


## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 142007 และขอขอบคุณ ดร.อัศนี มีสุข ที่แนะนำให้เข้าร่วมโครงการ BRT คุณสันติ ศรีฉ่ำ คุณสมเกียรติ โพธิรักษา ที่ช่วยเหลือในภาคสนาม คุณสุภาภรณ์ รุ่งสวรรณ์กุล ช่วยเหลือในเรื่องภาพประกอบ คุณขันธ์พงษ์ และคุณนพพร จริงจิต ช่วยในการวิเคราะห์ทางเคมี ดร.พรทิพย์ จันทรมงคล คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และคุณสุธาทิพย์ มาระเนตร์ ที่ช่วยเหลือเกี่ยวกับ Cluster analysis


## เอกสารอ้างอิง


Bergen, F.W. 1983. Advance in micropaleontology during the past 50 years. *In* J.B. Shelby (ed.), Revolution in the earth science advances in the past half-century: 204-209.

Boltovskoy, E. and R. Wright. 1976. Recent foraminifera. Junk,The Hague: 515.

Frerichs, W. 1967. Distribution and ecology of foraminifera in the sediments of the Andaman Sea. Ph.D Thesis. University of Southern California, unpublished.

Haga, H. 1964. Distribution of foraminifera in sediments of the Gulf of Thailand. M.Sc. Thesis. University of Southern California. Unpublished.

Jumnongthai, J. 1999. Brackish foraminifera from southern provinces along the Gulf of Thailand. Thai-Japanese geological meeting, Cha-Am, Phetchaburi: 60-77.

Loeblich, A. R. and H. Tappan. 1964. Sarcodina, chiefly “thecamoebians” and Foraminiferida. Treatise on Invertebrate Paleontology. *In* R.C. Moore (ed.), Geological. Society of. America., University. Kansas Press, Pt. C, Protista 2, 2vols.: 900.

Matoba, Y. 1970. Distribution of Recent shallow water foraminifera of Matsushima Bay, Miyagi Prefecture, northeast Japan. Reprint from the science reports of the Tohoku University, Sendai,second series (Geology) 42 (1): 1-85.

Murray, J.W. 1995. Microfossil indicators of ocean water masses. *In* Bosence and Allison(ed.), Marine paleoenvironmental analysis from fossils. Geological Society Special Publication 83: 245-246.

# การศึกษาชนิด ชีววิทยาและการแพร่กระจายของไรสี่ขาในภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศไทย

**อังศุมาลย์ จันทราปัตย์**

ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

**Abstract: Study on Species Diversity, Biology and Distribution of Eriophyoid Mites in the Central and Eastern Parts of Thailand**

Surveys of four-legged or eriophyoid mites were performed in 19 provinces of the central and eastern parts of Thailand, namely Bangkok, Kanchanaburi, Chanthaburi, Chachoengsao, Chonburi, Trat, Nakhon Nayok, Nakhon Pathom, Nonthaburi, Pathum Thani, Prachinburi, Pethchaburi, Rayong, Ratchaburi, Lopburi, Samut Songkhram, Sing Buri, Ayutthaya and Angthong. Surveying of eriophyoid mites was also carried out in 8 provinces outside the study area. These provinces were Uttaradit, Phitsanulok, Lampang, Chiang Mai, Phrachuap Khirikhan, Chainat, Saraburi and Nakhon Ratchasima. The total number of specimens collected from all sites was 2032 samples with 412 species of plants beging recorded as hosts. The host plants were categorized into horticultural, ornamental, vegetable, weed, medicinal, agricultural plants and forest tree. Ninety-four new species and 24 new genera of eriophyoid mites were found during this study. To date, 66 new species have been reported in international journals. Several mites were designated as plant pests such as eriophyiod mites infesting citrus plants, Linchee, Kra thon, Cha om, Mamuang, Makok-nam, Sadao, Chaaphluu, Kum bok and Noinaa. These mites induce rusting, galls, erinea, bud elongation, leaf mining or leaf distortion to host plants. Eriophyoid cadavers harboring fungi were brought into the laboratory, after which they were placed on artificial media in order to separate the pathogen from the mites. Only 113 strains of *Hirsutella thomsonii* var *synnematosa*, an important parasite of eriophyoid mites, were isolated from 152 different cadaver samples. Biology and distribution studies were performed on 6 rust mites and 1 vagrant mite. The rust mites and host plants included Sadao mite (*Phyllocoptes azadirachtae*) on Sadao Thai, Sadao India and Sadao chaang leaves, Ma kruut mite (*Circaces citri*) on Ma kruut and Manaao leaves, Chaaphluu mite (*Calepitrimerus piperus*), Kum bok mite (*Aculops cratevi*), Kheelek mite (*Tegoprionus cassii*) and Noinaa mite (*Calacarus* sp.). The Raang chuet mite (*Vilaia thunbergiae*) represented a vagrant mite in this study. All mites completed their development successfully within 5-10 days. Approximately 50% of the developmental time was consumed by the egg stage. Normally, higher than 90% of eggs hatched but the percentage of mites reaching adulthood varied from 50-90%. Most unfertilized females in this experiment produced 10 eggs or less per female. However, *A. cratevi* and *P. azadirachtae* reared on Sadao Thai and Sadao chaang were able to lay 10.88, 12.44 and 21.88 eggs/female. Each mite species laid 1-4 eggs/day except for *P. azadirachtae* for which 7 eggs/day were recorded. However, the rate of egg production was 1-2 eggs/female/day for all species tested. *Phyllocoptes azadirachtae* female lived 12-15 days whereas other female mites survived only 6-10 days. Most of the eriophyoid mites of this investigation were wide spread throughout the area of study and in every place where that the host plants were grown.

**Key words:** Eriophyoid mites, taxonomy, biology

## บทนำ

"ไรศัตรูพืช" หรือ phytophagous mite มีขนาดเล็กและสังเกตด้วยตาเปล่าได้ยาก เกษตรกรจึงมักเห็นการทำลายที่เกิดจากศัตรูเหล่านี้ก่อนที่จะเห็นตัวศัตรูพืชที่แท้จริง ไรศัตรูพืชซึ่งทำความเสียหายให้กับพืชต่างๆ ทั่วโลกมี 4 วงศ์ คือ ไรแมงมุมหรือไรแมงมุมแดง (spider mite, red spider mite), ไรแดงเทียม (tenuipalpid mite), ไรขาว (tarsonemid mite) และไรสี่ขา (the four-legged mite, eriophyoid mite) ไรสี่ขามีขนาดเล็กที่สุด ลำตัวยาว 120-260 ไมครอน และกว้าง 50-70 ไมครอน Reaumur (1737) เป็นคนแรกที่พบว่า ไรสี่ขาทำให้พืชสร้างปมที่มีแผงขนคล้ายกำมะหยี่อัดแน่นอยู่ภายใน ซึ่งช่วงนั้นเข้าใจว่าเป็นเพราะเชื้อรา จึงตั้งชื่อว่า "mold gall" ต่อมา Persoon (1797) ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ให้กับสิ่งมีชีวิตเล็กๆ เหล่านี้ว่า *Erineum* และ *Phyllerium* ในปี ค.ศ.1834 Fee รายงานว่า ภายใน mold gall หรือแผงขนกำมะหยี่นี้ ไม่มีสปอร์ของเชื้อรา แต่จะมีตัวหนอนเล็กๆ อาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก ทำให้นักอนุกรมวิธาน

สัตว์ในสมัยนั้นเริ่มวิเคราะห์ชนิดของตัวหนอนหรือไรสี่ขาเหล่านี้ ซึ่งต่อมาได้รับการตั้งชื่อว่า *Phytoptus tiliae* Pagenstecher (Lindquist and Amrine,1996)

ไรสี่ขาจัดอยู่ใน superfamily Eriophyoidea ประกอบด้วย ไรวงศ์ต่างๆ จำนวน 6 วงศ์ คือ Ashieldophyidae, Pentasetacidae, Nalepellidae, Phytoptidae, Eriophyidae และ Diptilomiopidae (Davis et al., 1982) ต่อมา Amrine (1996) ได้ทำแนวทางวินิจฉัยสกุลของไรสี่ขาของโลก และสรุปว่าไรสี่ขาในโลกมีเพียง 3 วงศ์ คือ Phytoptidae, Eriophyidae และ Diptilomiopidae Jeppson et al. (1975) กล่าวว่า ไรสี่ขามีความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชมาก (host specificity) อย่างน้อยที่สุดในระดับสกุล (genus) ของพืช จึงทำให้ความเสียหายที่เกิดขึ้นอยู่ในวงจำกัด อย่างไรก็ตาม ได้รายงานไว้ว่าไรสี่ขาบางชนิดสามารถทำลายพืชได้มากกว่า 1 สกุล เช่น Acelia tulipae (K) ซึ่งเป็นศัตรูของกระเทียมและทิวลิป เป็นต้น ไรสี่ขาหลายชนิดเป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ข้าว ส้ม องุ่น มะพร้าว กระเทียม ข้าวโพด ฯลฯ โดยทั่วไปเราจะรู้จักไรสี่ขาจากลักษณะอาการของพืชที่แสดงออกก่อนที่จะรู้จักตัวไร ไรสี่ขาที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืช ส่วนใหญ่จะไม่ทำให้พืชอาศัยตายในทันที แต่จะกระตุ้นให้พืชที่ถูกดูดกินสร้างเซลผิดปกติ เพื่อเป็นอาหารและที่อยู่อาศัยของลูกอ่อนต่อไป ดังนั้น ไรสี่ขาซึ่งทำลายพืชจึงมีชื่อเรียกตามลักษณะอาการที่ทำให้พืชผิดปกติหรือตามชนิดของพืช เช่น “ไรสนิม” (rust mite) ทำให้ผิวใบหรือบริเวณที่ถูกไรดูดทำลายกลายเป็นสีสนิม (rust) พบมากตามผิวของผลส้มเขียวหวาน ส้มโอ ส้มจี๊ด และมะนาว เกษตรกรจึงเรียกไรชนิดนี้ว่า “ไรสนิมส้ม” ตามชื่อของพืชที่ถูกทำลาย เมื่ออาการสีสนิมเกิดขึ้นบนใบพืช มักจะทำให้ใบแห้งหรือร่วงหล่นได้ เช่น ไรสนิมซึ่งทำลายใบสะเดาและกุ่มบกเป็นต้น “ไรปม” (gall mite) หมายถึง ไรสี่ขาที่กระตุ้นให้พืชสร้างปุ่มหรือปมตามใบหรือกิ่งก้านของพืช เช่น ใบชะอมหรือใบมะม่วงที่กอดกันเป็นก้อนกลม ปมที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นปมที่ปิดสนิท ไรจะขยายพันธุ์อยู่ภายในปม เช่น ปมที่พบบนใบหนามพุงดอ อย่างไรก็ดี พืชหลายชนิดจะสร้างปมที่ไม่ปิดสนิท ภายในปมเหล่านี้จะมีแผงขนอ่อนนุ่มคล้ายกำมะหยี่ใช้เป็นที่อยู่อาศัยของไรสี่ขาวัยต่างๆ เกษตรกรจึงรู้จักไรชนิดนี้ในนามของ “ไรกำมะหยี่” (erinium mite) เช่น ไรกำมะหยี่บนใบกระท้อนและลิ้นจี่ เป็นต้น “ไรตา” (bud mite) เป็นไรสี่ขาอีกพวกหนึ่งซึ่งทำให้ตาดอก หรือใบของพืชเจริญผิดปกติ เช่น ตาดอกมะม่วงที่ยืดยาวออกไปคล้ายหน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น

มีไรสี่ขาอีกเป็นจำนวนมากที่อาศัยอยู่บนพืช โดยไม่ทำให้พืชแสดงอาการผิดปกติ นักวิชาการด้านไรสี่ขาเรียกไรเหล่านี้ว่า “vagrant mite” หรือ “ไรจรจัด” ไรสี่ขาประเภทนี้ยังคงดูดกินน้ำเลี้ยงของพืชเป็นอาหาร สำหรับสาเหตุที่ไม่ทำให้พืชเกิดความเสียหายนั้น ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด จากการสุ่มสำรวจชนิดของไรสี่ขาบนพืชหลายชนิดในประเทศไทยพบว่า มีไรสี่ขาในกลุ่มนี้อยู่มากพอควร และจากการตรวจสอบเอกสารยังไม่พบข้อมูลที่ยืนยันได้แน่ชัดว่า พืชสามารถพัฒนาระบบป้องกันตัวเองจากการดูดทำลายของไรสี่ขาประเภท “จรจัด”

ไรสี่ขานอกจากจะทำอันตรายแก่พืชด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยงในเซลแล้ว บางชนิดยังเป็นพาหะในการถ่ายทอดโรคซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัสในพืชได้ (Slykhuis 1969, 1972; Oldfield, 1970) นอกจากนั้น Boczek et al. (1989) กล่าวว่าบางชนิดเป็นต้นเหตุของการแพร่กระจายของเชื้อราและไมโครพลาสมาในพืชอีกด้วย แต่เป็นที่น่าเสียดายว่าในประเทศไทยยังไม่มีผู้ศึกษาข้อมูลเหล่านี้

จากการที่ไรสี่ขาเป็นศัตรูสำคัญของพืชเศรษฐกิจ และทำความเสียหายต่อผลผลิต ทั้งในรูปของการสูญเสียผลผลิตและทำให้ผลผลิตด้อยคุณภาพ จึงได้มีนักวิจัยหลายท่านในประเทศไทย โดยเฉพาะกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม ให้ความสนใจศึกษาถึงชีววิทยา การขยายพันธุ์ของไร ปริมาณการแพร่กระจายของไร การประเมินความเสียหายของพืช รวมทั้งการป้องกันกำจัดไรสี่ขาโดยเน้นการใช้สารเคมีเป็นหลัก พืชเศรษฐกิจที่ได้รับความเสียหายจากไรสี่ขา และมีการศึกษาค้นคว้าด้านชีววิทยา การประเมินความเสียหาย และการป้องกันกำจัด ได้แก่ กระท้อน กระเทียม ลิ้นจี่ ส้มโอ และส้มเขียวหวาน (เทวินทร์และฉัตรชัย, 2537; เทวินทร์ และคณะ, 2533, 2538, 2539; มานิตา และคณะ, 2528, 2529a, 2529b, 2530a, 2530b, 2531; Chandrapatya, 1987) การศึกษาถึงการใช้สารสกัดจากสะเดาเพื่อกำจัดไรสนิมส้ม รวมทั้งศึกษาผลกระทบที่มีต่อศัตรูธรรมชาติ (เทวินทร์ และคณะ, 2538; เทวินทร์และมานิตา, 2539) นอกจากนั้น ยังมีการศึกษาถึงลักษณะความเสียหายของเซลล์พืชชนิดต่างๆ ที่เกิดจากการเข้าทำลายของไรสี่ขาอีกด้วย (Baker and Chandrapatya, 1989)

การผลิตพืชผลทางการเกษตรในปัจจุบัน มุ่งเน้นการผลิตที่ไม่ทำลายสภาพแวดล้อม ดังนั้น รัฐบาลจึงพยายามสนับสนุนให้หน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกษตร ได้ทำการศึกษาค้นคว้าหาวิธีการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช โดย

ลดปริมาณการใช้สารเคมีลงให้มากที่สุด ขณะเดียวกันก็ส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากศัตรูธรรมชาติ เช่น ตัวห้ำ ตัวเบียน และจุลินทรีย์ต่างๆ ที่สามารถนำมาขยายพันธุ์ให้มีปริมาณมาก และนำกลับไปใช้ในธรรมชาติได้

ไรสี่ขามีศัตรูธรรมชาติที่ช่วยควบคุมปริมาณของไรให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายได้เช่นกัน โดยเฉพาะเชื้อรา *Hirsutella thompsnii* ซึ่งแพร่ระบาดอยู่ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ จึงได้มีการทดลองผลิตเชื้อราชนิดนี้ให้มีปริมาณมาก และนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดไรสนิมส้ม ทั้งในสภาพห้องทดลองและสภาพไร่ (อังศุมาลย์, 2532; Chandrapatya, 1994, 1995; Chandrapatya and Dilokkunanant, 1988; Chandrapatya and McCoy, 1992; Maimala et al., 1999) แต่การศึกษาในด้านนี้ยังมีไม่มากพอที่จะเป็นข้อมูลสำหรับนำไปใช้ควบคุมปริมาณของไรในสภาพไร่ได้อย่างแท้จริง

นอกจากเชื้อราซึ่งเป็นตัวเบียนของไรสี่ขาแล้ว ในสภาพธรรมชาติยังมีตัวห้ำที่สำคัญ เช่น เพลี้ยไฟและไรตัวห้ำ ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมปริมาณของไรสี่ขาไม่ให้ทวีจำนวนจนเกิดอันตรายกับพืชได้ แต่การใช้สารเคมีที่มากเกินความจำเป็นหรือใช้สารที่เป็นอันตรายต่อศัตรูธรรมชาติ ก็ทำให้ศัตรูธรรมชาติเหล่านี้ถูกทำลายไป ในที่สุดก็เกิดการสูญเสียสมดุลในธรรมชาติโดยไม่สามารถเรียกคืนมาได้ ดังนั้น การควบคุมไรสี่ขาโดยใช้สารเคมีจึงควรทำด้วยความระมัดระวัง ทั้งนี้นอกจากจะลดปัญหาความเป็นพิษต่อศัตรูธรรมชาติแล้ว ยังป้องกันปัญหาไรดื้อยา และลดมลภาวะในสภาพแวดล้อม รวมทั้งเป็นการเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ผลิตและผู้บริโภคอีกด้วย

อย่างไรก็ตาม ก่อนที่จะหาวิธีป้องกันกำจัดไรสี่ขาที่ได้ผลนั้น จะต้องทราบข้อมูลเบื้องต้น โดยเฉพาะชนิดของไรที่พบ จึงจะทำให้สามารถค้นคว้าหาข้อมูลที่เกี่ยวข้องได้อย่างถูกต้อง ปัจจุบันข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของไรสี่ขาที่มีปรากฏอยู่ในโลกยังค่อนข้างจำกัดอยู่ในภาคพื้นยุโรปและทวีปอเมริกาเหนือเท่านั้น เนื่องจากการศึกษาไรสี่ขาเริ่มขึ้นในยุโรปและสหรัฐอเมริกา ดังนั้น บุคลากรที่มีความรู้ความสามารถในการจำแนกชนิดของไรสี่ขา จึงกระจายอยู่ใน 2 ภูมิภาคนี้มากกว่าภูมิภาคอื่น

การศึกษาด้านอนุกรมวิธานของไรสี่ขาในภูมิภาคเอเชีย ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในประเทศอินเดีย และจีน ในปี ค.ศ.1966 Channa Basavanna รวบรวมไรสี่ขาที่พบในประเทศอินเดียจำนวน 18 สกุล (genus) 61 ชนิด (species) ในหนังสือ “Eriophyids of India” ประมาณ 70% (44 ชนิด) ของไรสี่ขาที่รายงานไว้จัดเป็นไรชนิดใหม่ของโลก Amrine and Stasny (1994) รายงานไว้ใน Catalog of the Eriophyoidea ว่าไรจำนวน 389 ชนิดที่พบในเอเชียตอนใต้นั้นเป็นไรที่พบในประเทศอินเดียถึง 386 ชนิด Hong and Zhang (1996) ได้รวบรวมชนิดของไรสี่ขาในประเทศจีน และจัดทำ Eriophyoidea of China: Illustrated Catalog and Identification Keys เพื่อใช้ในการจำแนกไรสี่ขาในประเทศจีน จำนวน 74 สกุล 200 ชนิด

สำหรับประเทศอื่นๆ ในเอเชียที่มีรายงานการพบไรสี่ขาชนิดใหม่ ได้แก่ อินโดนีเซีย ไต้หวัน ญี่ปุ่น และไทย เป็นต้น ไรสี่ขาที่พบในประเทศอินโดนีเซียส่วนใหญ่ ได้รับการจำแนกชนิดโดย Alfred Nalepa

งานด้านอนุกรมวิธานของไรสี่ขาในประเทศไทยเริ่มขึ้นโดย H.H. Keifer ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ชื่อของไรสี่ขาที่เก็บรวบรวมไว้โดย L.C. Knorr ในระหว่างปี ค.ศ.1971-1977 ในฐานะผู้จัดการโครงการ “Strengthening Plant Protection Services” ภายใต้ทุน UNDP/FAO/ Government of Thailand โครงการที่ THA 68/526 และ 74/019 ในปี ค.ศ.1978 Keifer and Knorr รายงานผลการสำรวจไรสี่ขาของประเทศไทยใน Eriophyid Mites of Thailand โดยกล่าวว่าพบไรสี่ขาในประเทศไทยรวมทั้งสิ้น 23 สกุล 35 ชนิด ในจำนวนนี้จัดเป็นไรสี่ขาที่พบเป็นครั้งแรกของโลก 7 สกุล 27 ชนิด

ประมาณปี พ.ศ. 2526 เป็นต้นมา นักวิจัยกลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร กรมวิชาการเกษตร (ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อเป็นกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม) ได้ทำการศึกษาอนุกรมวิธานของไรศัตรูพืชเศรษฐกิจหลายครั้ง ทั้งไม้ดอก ไม้ประดับ พืชไร่ พืชสวน และไม้ผล และได้รายงานการสำรวจพบไรสี่ขาในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ได้แก่ กระเทียม (วัฒนา และคณะ, 2526, 2528), ส้มโอและส้มเขียวหวาน (วัฒนา และคณะ, 2530, 2531, 2534, 2535a), มะม่วง (วัฒนา และคณะ, 2535b), พุทรา (วัฒนา และมานิตา, 2539) นอกจากนั้น มีรายงานความเสียหายของช่อดอกลิ้นจี่ที่เกิดจากการดูดกินโดยไรสี่ขา (มานิตา และคณะ, 2528) และมีรายงานการแพร่ระบาดของไรสี่ขาบนใบสาบเสืออีกด้วย (Napompeth et al., 1988)

ไรสี่ขาที่พบโดยกลุ่มนักวิจัยไทยดังกล่าวมีจำนวนรวมทั้งสิ้น 10 ชนิด จัดเป็นไรที่พบเป็นครั้งแรกในประเทศไทย (new record) 4 ชนิด และเป็นไรชนิดใหม่ของโลกอีก 1 ชนิด ซึ่งได้รับการตั้งชื่อโดย Boczek and Knihinicki เมื่อปี ค.ศ.1998

Chandrapatya and Boczek ทำการสำรวจไรสี่ขาในประเทศไทย และรายงานการค้นพบไรสี่ขาจำนวน 49 ชนิด (species) จัดอยู่ในสกุล (genus) ต่างๆ 27 สกุล เป็นไรสกุลใหม่ 8 สกุล ไรชนิดใหม่ 46 ชนิด และไรที่เคยมีรายงานการค้นพบแล้ว แต่พบในประเทศไทยเป็นครั้งแรก (new record) อีก 3 ชนิด (Boczek and Chandrapatya, 1989a, 1989b, 1992a, 1992b, 1992c; Chandrapatya and Boczek, 1991a, 1991b, 1991c, 1993a, 1993b)

Amrine and Stasny (1994) ได้รายงานไว้ใน Catalog of the Eriophyoidea ว่าไรสี่ขาชนิดใหม่ที่พบในประเทศไทยมี 50 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นไรที่รายงานโดย Keifer and Knorr (1978) 27 ชนิด อีก 23 ชนิดเป็นไรชนิดใหม่ที่รายงานโดย Chandrapatya and Boczek แต่เมื่อได้ทำการรวบรวมชนิดไรสี่ขาในเอกสารต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นแล้ว พบว่า ไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกที่พบครั้งแรกในประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ.2521-2536 นั้น มีจำนวนรวมทั้งสิ้น 74 ชนิด ส่วนไรสี่ขาที่พบในประเทศอื่นมาก่อนแล้ว แต่เริ่มสำรวจพบในประเทศไทยเป็นครั้งแรกมีจำนวน 15 ชนิด

ระหว่างปี พ.ศ.2539-2540 Chandrapatya and Boczek ได้ตีพิมพ์ผลงานการค้นพบไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกอีกจำนวน 25 ชนิด โดยจัดเป็นไรสี่ขาสกุลใหม่ของโลก จำนวน 7 สกุล (Boczek and Chandrapatya, 1996a, 1996b; Chandrapatya and Boczek, 1996, 1997a, 1997b) ทำให้จำนวนไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทยนับถึงปี พ.ศ.2540 มี 99 ชนิด โดยเป็นไรสกุลใหม่ของโลก จำนวน 22 สกุล

เมื่อพิจารณาจำนวนของไรสี่ขาในประเทศไทยที่ได้รับการศึกษาแล้ว เห็นว่ายังมีอยู่น้อยมากเมื่อเทียบกับความหลากหลายของพรรณพืช ไม่ว่าจะเป็นไม้ผล ไม้ดอก ไม้ประดับ พืชสมุนไพร พืชป่า หรือวัชพืช นอกจากนั้นการที่ประเทศไทยอยู่ในเขตร้อน จึงมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสม และทำให้ไรสี่ขาสามารถเจริญเติบโตได้ตลอดปี ประกอบกับไรสี่ขาเป็นไรที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชอาศัยมาก (host specificity) จึงเชื่อว่า หากมีการศึกษาชนิดของไรสี่ขาบนพืชต่างๆ ในประเทศไทยอย่างจริงจังแล้ว จะพบไรสี่ขาชนิดใหม่ๆ ของโลกอีกเป็นจำนวนมาก

ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้น จะเห็นว่าการสำรวจชนิดของไรสี่ขาในประเทศไทย พร้อมทั้งการศึกษาด้านชีววิทยาและเขตการแพร่กระจายของไรสี่ขาศัตรูพืช ควรได้รับการสนับสนุนอย่างจริงจังและต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับชนิดของไรสี่ขาทั้งที่เป็นศัตรูพืชและไรจรจัด ซึ่งนับว่ามีความสำคัญและเป็นการสร้างองค์ความรู้พื้นฐานให้กับงานวิจัยด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับไรสี่ขาต่อไปในอนาคต

ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการรวบรวมและวิเคราะห์ชนิดของไรสี่ขา ทั้งชนิดที่เป็นศัตรูพืชและไม่ใช่ศัตรูพืช โดยเฉพาะไม้ผล ไม้ดอก ไม้ประดับ พืชสมุนไพร และไม้ป่า โดยเน้นการสำรวจในภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศ ซึ่งเป็นแหล่งที่มีพืชเศรษฐกิจทั้งไม้ผล ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชสมุนไพรค่อนข้างมาก และการศึกษาชีววิทยาและการแพร่กระจายของไรสี่ขาบางชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญของพืช หรือมีแนวโน้มว่าจะเป็นศัตรูพืชในอนาคต เพื่อเป็นพื้นฐานในการป้องกันกำจัดไรศัตรูพืชชนิดนั้นๆ ต่อไป การจำแนกชนิดของไรสี่ขา ใช้แนวทางการจำแนกสกุลของไรสี่ขา ซึ่งเขียนโดย Davis et al. (1982) เป็นหลัก ประกอบกับแนวทางการวินิจฉัยสกุลของไรสี่ขาของโลก ซึ่งเสนอโดย Amrine (1996) และเอกสารด้านอนุกรมวิธานของไรสี่ขาชิ้นอื่นๆ อีกเป็นจำนวนมาก

## การสำรวจและการจำแนกชนิดไรสี่ขา

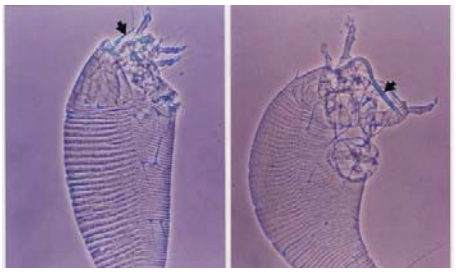
การสำรวจไรสี่ขาในภาคกลางและภาคตะวันออก ครอบคลุม 19 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร กาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ตราด นครนายก นครปฐม นนทบุรี ปทุมธานี ปราจีนบุรี เพชรบุรี ระยอง ราชบุรี ลพบุรี สมุทรสงคราม สิงห์บุรี อยุธยา และอ่างทอง นอกจากนั้น ยังได้เก็บรวบรวมตัวอย่างไรสี่ขาในจังหวัดที่ผู้วิจัยเดินทางผ่านเพื่อเข้าร่วมประชุมต่างๆ เช่น การประชุมของโครงการ BRT และการประชุมของศูนย์พันธุวิศวกรรมแห่งชาติ รวม 4 จังหวัด ได้แก่ อุตรดิตถ์ พิษณุโลก ลำปาง และเชียงใหม่ รวมทั้งจังหวัดซึ่งมีอาณาเขตติดต่อกับภาคกลางอีก 4 จังหวัด ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ ชัยนาท สระบุรี และนครราชสีมา รวมพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างไรสี่ขาในครั้งนี้ 27 จังหวัด ได้ตัวอย่างไรสี่ขารวมทั้งสิ้น 2,032 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 383 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย พืชไร่ พืชสวน พืชสมุนไพร

ไม้ดอก ไม้ประดับ ไม้ผล และไม้ป่า และยังมีพืชที่กำลังอยู่ระหว่างวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์อีกจำนวน 29 ชนิด

ไรสี่ขาที่รวบรวมได้ จำแนกออกตามรูปร่างลักษณะได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีลำตัวเรียวยาวคล้ายหนอน (wormiform) เช่น ไรในปมกระท้อน สาบเสือ ลิ้นจี่ หรือไรจรจัดบนพืชบางชนิด เช่น กรวยป่า และกลุ่มที่มีส่วนหัวป้านและส่วนท้ายแหลม (fusiform) ซึ่งมีทั้งไรศัตรูพืชและไรจรจัด เช่น ไรกระท้อน มะม่วง ข่า ที่เป็นศัตรูพืช เช่น ไรสี่ขาบนใบตีนเป็ด

ไรสี่ขาที่พบในประเทศไทยมีอยู่เพียง 2 วงศ์ คือ Eriophyidae และ Diptilomiopidae มีข้อแตกต่างกันอย่างชัดเจน คือ

1. วงศ์ Eriophyidae มีรูปร่างคล้ายหนอนหรือหัวป้านท้ายแหลม อวัยวะดูดอาหาร (chelicerae) สั้นมาก และเหยียดตรงไปข้างหน้าหรือโค้งต่ำลงเล็กน้อย (ภาพที่ 1ก)
2. วงศ์ Diptilomiopidae มีลำตัวอ้วนใหญ่ หัวป้านท้ายแหลม อวัยวะดูดอาหารเป็นเส้นยาว หักงอลงทางด้านล่างจนเกือบทำมุมฉากกับลำตัว (ภาพที่ 1ข)



ภาพที่ 1. ก) ไรสี่ขาในวงศ์ Eriophyidae มีท่อดูดอาหารสั้น (➔), ข) ไรสี่ขาในวงศ์ Diptilomiopidae มีท่อดูดอาหารยาว (➔)

ผลจากการออกเก็บตัวอย่างเดือนละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 3 ปี ทำให้ได้ไรสี่ขาเป็นจำนวนกว่า 2,000 ตัวอย่าง จึงไม่สามารถทำการจำแนกได้หมด ประกอบกับมีตัวอย่างเดิมค้างอยู่อีกมาก จากการตรวจสอบอย่างคร่าวๆ พบว่า มีไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกเกินกว่า 100 ชนิด อย่างไรก็ตาม ระหว่างการดำเนินงานวิจัยในปี พ.ศ. 2541-2543 ได้ตีพิมพ์ผลงานการค้นพบไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกในวารสารวิชาการนานาชาติ จำนวน 16 ฉบับ โดยรายงานการค้นพบไรสี่ขาชนิดใหม่จำนวน 66 ชนิด พร้อมการจัดตั้งไรสี่ขาสกุลใหม่ของโลก 19 สกุล (ตารางที่ 1) นอกจากนั้นยังมีผลงานวิจัยที่กำลังอยู่ในระหว่างรอตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติอีก 4 ฉบับ ซึ่งเป็นการรายงานไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลก จำนวน 16 ชนิด จัดเป็นไรสกุลใหม่ 4 สกุล (ตารางที่ 2) และกำลังจัดเตรียมต้นฉบับการรายงานไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกอีก จำนวน 12 ชนิด (ตารางที่ 3) รวมจำนวนไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกที่ได้รับการจำแนกชนิดแล้วในช่วงที่รับโครงการนี้ 94 ชนิด ในจำนวนนี้มีไรสกุลใหม่ของโลกถึง 24 สกุลด้วยกัน นอกจากนั้นยังพบไรสี่ขาที่เคยมีรายงานไว้แล้วในประเทศอื่นๆ แต่เพิ่งสำรวจพบในประเทศไทยเป็นครั้งแรกอีก จำนวน 7 ชนิด (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1. ไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทยโดย Chandrapatya และ Boczek และได้รับการตีพิมพ์แล้ว

| ลำดับ | ชื่อไรสี่ขา | ชื่อพืช | ชื่อสามัญ | วงศ์ | สถานที่เก็บ | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *Acarhis siamensis* B&C | *Rauwenhoffia siamensia* Scheff. | นมแมว | Annonaceae | นครราชสีมา | Boc.&Chand. 2000 a |
| 2 | *Aculodes ventricosae* C | *Bambusa ventricosa* McClure | ไผ่น้ำเต้า | Poaceae | นครปฐม | Boc.&Chand. 1998 a |
| 3 | *Aculops cratevi* B&C | *Crateva adansonii* DC sp. *trifoliata* (Roxb.) | กุ่มบก | Capparidaceae | อยุธยา | Boc.&Chand. 2000 b |
| | | *Crateva roxburghii* R.Br. | กุ่มน้ำ | Capparidaceae | อยุธยา | |
| 4 | *Aculops desmodii* C&B | *Desmodium gangeticum* DC. | อีเหนียว | Papilionaceae | ชลบุรี | Chand.&Boc. 2000 a |
| 5 | *Aculops glabrati* B&C | *Vitex glabrata* R.Br. | ไข่เน่า | Verbenaceae | ชัยนาท | Boc.&Chand. 2000 b |
| 6 | *Aequsomatus indicus* B&C | *Flacourtia indica* Merr. | ตะขบป่า | Flacourtiaceae | กรุงเทพฯ | Boc.&Chand. 2000 c |
| 7 | *Aequsomatus longani* B&C | *Dimocarpus longan* Lour. | ลำไย | Sapindaceae | ตรัง | Boc.&Chand. 2000 c |
| 8 | *Areekulus eugeniae* C | *Syzygium jambos* Linn. | ชมพู่พลาสติก | Myrtaceae | พิจิตร | Boc.&Chand. 1998 b |
| 9 | *Asetacus elaeocarpi* C&B | *Elaeocarpus lanceifolius* Roxb. | พีพ่าย | Elaeocarpaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 e |
| 10* | *Bauhinius minutus* C&B | *Bauhinia variegata* Linn. | เสี้ยวดอกขาว | Papilionaceae | ชลบุรี | Chand.&Boc. 2000 f |
| 11* | *Bischofius kanchanaburi* B&C | *Bischofia javanica* Bl | ประดู่ส้ม | Bischofiaceae | กาญจนบุรี | Boc.&Chand. 2000 e |

ตารางที่ 1. (ต่อ)

| ลำดับ | ชื่อไรสี่ขา | ชื่อพืช | ชื่อสามัญ | วงศ์ | สถานที่เก็บ | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 12 | *Calepitrimerus heliciopsus* C&B | *Heliciopsis terminalis* Sleumer. | เหมือดคน | Proteaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 d |
| 13 | *Calepitrimerus michelus* C&B | *Michelia champaca* Linn. | จำปา | Magnoliaceae | สงขลา | Chand.&Boc. 2000 a |
| 14 | *Cecidophyes querci* C&B | *Quercus mespilifolioidea* A. Camus | ก่อแงะ | Fagaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 f |
| 15* | *Chonburinus erythrini* B&C | *Erythrina variegata* Linn. | ทองหลาง | Papilionaceae | นครปฐม | Boc.&Chand. 2000 c |
| 16* | *Criocarpus tropicalis* B&C | *Artocarpus lakoocha* Roxb. | มะหาด | Moraceae | เชียงใหม่ | Boc.&Chand. 2000 f |
| 17 | *Diptacus diospyrosi* C&B | *Diospyros* sp. | ดงดำ | Ebenaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 e |
| 18* | *Duabangus chiangmai* C&B | *Duabanga grandiflora* Roxb ex. Walp. | ตุ้มแต๋น | Sonneratiaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 d |
| 19* | *Ekaphyes anacardi* B&C | *Anacardium occidentale* Linn. | มะม่วงหิมพานต์ | Anacardiaceae | สงขลา | Boc.&Chand. 2000 g |
| 20 | *Epitrimerus alpini* C&B | *Alpinia zerumbet* (Pres.) Burtt. | ข่าคม | Zingiberaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 f |
| 21 | *Epitrimerus cannae* B | *Canna edulis* Ker.Gawl | อะตาลุด | Maranthaceae | พิจิตร | Chand.&Boc. 1998 |
| 22 | *Epitrimerus ellipticus* B&C | *Morinda elliptica* Ham. | ยอป่า | Rubiaceae | สุราษฎร์ธานี | Boc.&Chand. 2000 f |
| 23 | *Epitrimerus tinosporus* C&B | *Tinospora crispa* (L) Meerr ex Hook. | บอระเพ็ด | Menispermaceae | เพชรบุรี | Chand.&Boc. 2000 a |
| 24 | *Epitrimerus trewi* C&B | *Trewia nudiflora* Linn. | มะฝ่อ | Euphorbiaceae | นครนายก | Chand.&Boc. 2000 f |
| 25 | *Epitrimerus zingiberi* B | *Alpinia purpurata* (Vieill) Schum | ขิงแดง | Zingiberaceae | พิจิตร | Chand.&Boc. 1998 |
| 26 | *Gammaphytoptus albizi* B&C | *Albizia lebbeck* (L.) Benth. | พฤกษ์ | Papilionaceae | อยุธยา | Boc.&Chand. 2000 f |
| 27 | *Garcinyes madannis* B&C | *Garcinia schomburgkiana* Pierre | มะดัน | Clusiaceae | ชลบุรี | Boc.&Chand. 2000 g |
| 28* | *Garcinyes mangosteenis* B&C | *Garcinia mangostana* Linn. | มังคุด | Clusiaceae | ชลบุรี | Boc.&Chand. 2000 g |
| 29* | *Jaranasia anamensiae* C&B | *Parinari anamensis* Hance. | มะพอก | Rosaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 b |
| 30* | *Kolacarus bambusae* B | *Bambusa vulgaris* Schrad. var. *striata* | ไผ่เหลือง | Poaceae | ระยอง | Boc.&Chand. 1998 a |
| 31 | *Lithocarus longifolii* C&B | *Polyalthia longifolia* Benth & Hook.f. var. *pandesata* | อโศกอินเดีย | Annonaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 e |
| 32* | *Lithocarus thomsoni* C&B | *Lithocarpus thomsonii* Rehd. | ก่อยาว | Fagaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 e |
| 33* | *Milleniophyes hispidus* C&B | *Ficus hispida* Linn.f. | มะเดื่อปล้อง | Moraceae | ชลบุรี | Chand.&Boc. 2000 d |
| 34 | *Paniculatus microcosus* B&C | *Microcos paniculata* Roxb. | พลับพลา,ไม้ลาย | Tiliaceae | เชียงใหม่ | Boc.&Chand. 2000 b |
| 35* | *Paniculatus samoengus* B&C | *Microcos paniculata* Roxb. | พลับพลา,ไม้ลาย | Tiliaceae | เชียงใหม่ | Boc.&Chand. 2000 b |
| 36* | *Parinarus anamensus* C&B | *Parinari anamensis* Hance. | มะพอก | Rosaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 b |
| 37 | *Phyllocoptes ficifolii* B&C | *Ficus hispida* Linn.f. | มะเดื่อปล้อง | Moraceae | นครศรีธรรมราช | Boc.&Chand. 2000 e |
| 38 | *Phyllocoptruta acuminatae* B&C | *Musa accuminata* Colla. | กล้วยป่า | Musaceae | เชียงใหม่ | Boc.&Chand. 2000 f |

ตารางที่ 1. (ต่อ)

| ลำดับ | ชื่อไรสี่ขา | ชื่อพืช | ชื่อสามัญ | วงศ์ | สถานที่เก็บ | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 39 | *Phyllocoptruta maerimae* B&C | *Bischofia javanica* Bl | ประดู่ส้ม | Bischofiaceae | เชียงใหม่ | Boc.&Chand. 2000 e |
| 40 | *Phytoptochetus bambusae* B | *Bambusa* sp. | ไผ่ | Poaceae | ระยอง | Boc.&Chand. 1998 a |
| 41 | *Proneotegonotus dipterocarpi* C&B | *Dipterocarpus alatus* Roxb. | ยางนา | Dipterocarpaceae | ชลบุรี | Chand.&Boc. 2000 c |
| 42* | *Randius oppositifolii* B&C | *Randia oppositifolia* Koord. | คัดเค้าทอง | Rubiaceae | ระนอง | Boc.&Chand. 2000 a |
| 43* | *Ranongus eugenus* C&B | *Syzygium javanica* Lamk. | ชมพู่ทูลเกล้า | Myrtaceae | ระนอง | Chand.&Boc. 2000 c |
| 44 | *Rhynacus terminalis* C&B | *Terminalia catappa* Linn. | หูกวาง | combretaceae | เพชรบุรี | Chand.&Boc. 2000 b |
| 45 | *Rhyncaphytoptus bambusae* B | *Bambusa ventricosa* McClure | ไผ่น้ำเต้า | Poaceae | นครปฐม | Boc.&Chand. 1998 a |
| 46 | *Rhyncaphytoptus talutus* C&B | *Shorea roxburghii* G.Don | พะยอม | Dipterocarpaceae | เพชรบุรี | Chand.&Boc. 2000 d |
| 47 | *Shevtchenkella arfeuilleae* C&B | *Arfeuillea arborescens* Pierre | คงคาเดือด | Sapindaceae | นครราชสีมา | Chand.&Boc. 2000 a |
| 48* | *Siamphyes atalanti* B&C | *Atalantia monophylla* Correa | มะนาวผี | Rutaceae | เพชรบุรี | Boc.&Chand. 2000 c |
| 49 | *Siamphyes crotoni* B&C | *Croton oblongifolius* Roxb. | เปล้าใหญ่ | Euphorbiaceae | ชลบุรี | Boc.&Chand. 2000 c |
| 50* | *Siracharus dipterocarpi* C&B | *Dipterocarpus alatus* Roxb. | ยางนา | Dipterocarpaceae | ชลบุรี | Chand.&Boc. 2000 c |
| 51* | *Suthamus chiangmi* C&B | *Parinari anamensis* Hance. | มะพอก | Rosaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 b |
| 52 | *Tegonotus anthocephali* B&C | *Anthocephalus chinensis* (Lamk.) A. Rich. | ตะกู, ก้านเหลือง | Rubiaceae | อยุธยา | Boc.&Chand. 2000 e |
| 53 | *Tegonotus suregadi* B&C | *Suregada multiflorum* Baill | ขันทองพยาบาท | Euphorbiaceae | นครราชสีมา | Boc.&Chand. 2000 a |
| 54 | *Tegoprionus cassii* B&C | *Cassia siamea* Lamk. | ขี้เหล็กบ้าน | Papilionaceae | เพชรบุรี | Boc.&Chand. 2000 a |
| 55 | *Tetra brideliae* C&B | *Bridelia ovata* Decne | มะกา | Euphorbiaceae | นครศรีธรรมราช | Chand.&Boc. 2000 g |
| 56 | *Tetra centrosemae* C&B | *Centrosema pubescens* Benth. | ถั่วลาย | Papilionaceae | | Chand.&Boc. 2000 g |
| 57 | *Tetra fistulae* C&B | *Cassia fustula* Linn. | ราชพฤกษ์ | Papilionaceae | นครศรีธรรมราช | Chand.&Boc. 2000 g |
| 58 | *Tetra lepisanthae* B&C | *Lepisanthes rubiginosa* Leenh | มะหวด | Sapindaceae | สมุทรสงคราม | Boc.&Chand. 2000 g |
| 59 | *Tetra samaniae* C&B | *Samanea saman* (Jacq.) Merr. | จามจุรี | Papilionaceae | พิจิตร | Chand.&Boc. 2000 g |
| 60* | *Thiracarus bambusae* C | *Bambusa blumeana* Schult. | ไผ่สีสุก | Poaceae | กรุงเทพ | Boc.&Chand. 1998 a |
| 61 | *Tumescoptes sandorici* C&B | *Sandoricum koetjape* Merr. | กระท้อน | Meliaceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2000 c |
| 62 | *Vilaia cerberae* C | *Ceebera odollam* Gaertn. | ตีนเป็ดทะเล | Apocynaceae | ระยอง | Boc.&Chand. 1998 b |
| 63 | *Vilaia meliae* B | *Melia azedarach* Linn. | เลี่ยน | Meliaceae | พิจิตร | Boc.&Chand. 1998 b |
| 64 | *Vilaia morindae* B | *Morinda citrifolia* Linn. | ยอบ้าน | Rubiaceae | พิจิตร | Boc.&Chand. 1998 b |
| 65 | *Vilaia musae* C | *Musa aapientum* Linn. | กล้วยไข่ | Musaceae | กำแพงเพชร | Chand.&Boc. 1998 |
| 66 | *Vilaia swieteniae* C | *Swietenia macrophylla King* | มะฮอกกานีใบใหญ่ | Meliaceae | กรุงเทพ | Chand.&Boc. 1998 |

หมายเหตุ: * ไรสกุลใหม่ของโลก พบครั้งแรกในประเทศไทย

ตารางที่ 2. ไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทยโดย Chandrapatya และ Boczek และกำลังรอตีพิมพ์

| ลำดับ | ชื่อไรสี่ขา | ชื่อพืช | ชื่อสามัญ | วงศ์ | สถานที่เก็บ | เอกสารอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1* | *Bangkophyes fici* B&C | *Ficus hispida* Linn.f. | มะเดื่อปล้อง | Moraceae | กรุงเทพฯ | Boc.&Chand. 2000 d |
| 2 | *Callyntrotus cerberi* C&B | *Cerbera odollam* Gaertn.. | ตีนเป็ดน้ำ | Apocynaceae | นครปฐม | Chand.&Boc. 2000 c |
| 3 | *Callyntrotus duranti* C&B | *Duranta repens* Linn. | เทียนทอง | Verbenaceae | สระบุรี | Chand.&Boc. 2000 c |
| 4* | *Casearius wormiformis* B&C | *Casearia grewiaefolia* Vent. | กรวยป่า | Asclepiadaceae | ชลบุรี | Boc.&Chand. 2000 d |
| 5* | *Combretus thailandus* B&C | *Combretum quadrangulare* Kurz | สะแกนา | Combretaceae | ประจวบ-คีรีขันธ์ | Boc.&Chand. 2000 d |
| 6 | *Epitrimerus altissimus* C&B | *Ficus altissima* Bl. | กร่าง | Moraceae | เชียงใหม่ | Chand.&Boc. 2001 b |
| 7 | *Epitrimerus combreti* B&C | *Combretum quadrangulare* Kurz | สะแกนา | Combretaceae | นครปฐม | Boc.&Chand. 2000 d |
| 8* | *Mangophyes siami* C&B | *Mangifera indica* Linn. | มะม่วงเบา | Anacardiaceae | สงขลา | Chand.&Boc. 2001 b |
| 9 | *Tegophyes benjamini* C&B | *Ficus benjamina* Linn. | ไทรใบปลายแหลม | Moraceae | นครสวรรค์ | Chand.&Boc. 2001 b |
| 10 | *Tegophyes chonburi* C&B | *Ficus* sp. | ไทรป่า | Moraceae | ชลบุรี | Chand.&Boc. 2001 b |
| 11 | *Tetra albiziae* C&B | *Albizia lebbeck* (L.) Benth. | พฤกษ์ | Papilionaceae | นครปฐม | Chand.&Boc. 2001 a |
| 12 | *Tetra salaya* C&B | *Feroniella lucida* Swing. | มะสัง | Rutaceae | นครปฐม | Chand.&Boc. 2001 a |
| 13 | *Vilaia jasminiae* C&B | *Jasminum auriculatum* Vahl | พุทธชาติ | Oleaceae | ชุมพร | Chand.&Boc. 2001 a |
| 14 | *Vilaia racemosae* C&B | *Ficus racemosa* Linn. | มะเดื่ออุทุมพร | Moraceae | ตรัง | Chand.&Boc. 2001 a |
| 15 | *Vimola bauhiniae* C&B | *Bauhinia purpurea* Linn. | ชงโค | Papilionaceae | สงขลา | Chand.&Boc. 2001 c |
| 16 | *Vimola cassiae* C&B | *Cassia siamea* Lamk. | ขี้เหล็กบ้าน | Papilionaceae | กระบี่ | Chand.&Boc. 2001 c |

หมายเหตุ: * ไรสกุลใหม่ของโลก พบครั้งแรกในประเทศไทย

ตารางที่ 3. ไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกที่พบในประเทศไทยโดย Chandrapatya และ Boczek และกำลังอยู่ในระหว่างการจัดเตรียมต้นฉบับ

| ลำดับ | ชื่อไรสี่ขา | ชื่อพืช | ชื่อสามัญ | วงศ์ | สถานที่เก็บ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *Bamboocarus asperi* | *Dendrocalamus asper* Back. | ไผ่ตง | Poaceae | จันทบุรี |
| 2 | *Callyntrotus solani* | *Solanum seaforthianum* Andrews | มะแว้งเทศ | Solanaceae | เพชรบุรี |
| 3 | *Vilaia adenosmae* | *Adenosma hirsutum* Kurz | อ้าหลวง | Scrophulariaceae | เชียงใหม่ |
| 4 | *Vilaia aglaiae* | *Aglaia* sp. | สังเครียด | Meliaceae | ชุมพร |
| 5 | *Vilaia anthocephaliae* | *Anthocephalus chinensis* (Lamk.) A. Rich. | ตะกู, ก้านเหลือง | Rubiaceae | อยุธยา |
| 6 | *Vilaia benjaminae* | *Ficus benjamina* Linn. | ไทรย้อย | Moraceae | ชลบุรี |
| 7 | *Vilaia bouea* | *Bouea oppositifolia* Moissn | มะปราง | Anacardiaceae | ปราจีนบุรี |
| 8 | Vilaia combretae | *Combretum quadrangulare* Kurz | สะแกนา | Combretaceae | ประจวบคีรีขันธ์ |
| 9 | *Vilaia ellipticae* | *Morinda elliptica* Hom | ยอป่า | Rubiaceae | เชียงใหม่ |
| 10 | *Vilaia riciniae* | *Ricinus communis* Linn. | ละหุ่ง | Euphorbiaceae | เชียงใหม่ |
| 11 | *Vilaia thunbergiae* | *Thumbergia laurifolia* Linn. | รางจืด | Thunbergiaceae | เชียงใหม่ |
| 12 | *Vimola flacourtiae* | *Flacourtia* sp. | ตะขบเม็ดดำ | Asclepiadaceae | สงขลา |

ในการเก็บตัวอย่างไรสี่ขา มักพบซากไรซึ่งมีเชื้อราแทงทะลุออกจากผนังลำตัว เมื่อนำเชื้อราดังกล่าวมาแยกให้บริสุทธิ์ และทำการวิเคราะห์ชนิดในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อราดังกล่าว คือ *Hirsutella thompsonii* var *synnematosa* ซึ่งเป็นตัวเบียนที่สำคัญของไรสี่ขาในหลายประเทศ เชื้อรานี้ทำให้ไรสี่ขาตายภายใน 2-3 วัน จากการสำรวจพบว่า เชื้อราชนิดนี้แพร่ระบาดมากที่สุดในช่วงที่มีอากาศค่อนข้างเย็น โดยเฉพาะระหว่างเดือนตุลาคมถึงมกราคมของทุกปีที่ทำการสำรวจ อย่างไรก็ตาม จำนวนซากไรที่มีเชื้อราเข้าทำลายนี้มีอยู่น้อยมาก อีกทั้งมีปัญหาด้านการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นและแบคทีเรีย ทำให้การแยกเชื้อราเพื่อให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ประสบความสำเร็จน้อยลง เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมักเจริญเติบโตได้เร็วกว่าเชื้อที่ต้องการ จากตัวอย่างซากไรสี่ขาที่มีเชื้อรา *H. thompsonii* จำนวน 152 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อราที่บริสุทธิ์ได้เพียง 113 ตัวอย่างเท่านั้น

ตารางที่ 4. ไรสี่ขาที่พบครั้งแรกในประเทศไทยโดย Chandrapatya และ Boczek แต่มีรายงานในประเทศอื่นแล้ว

| ลำดับ | ชื่อไรสี่ขา | ชื่อพืช | ชื่อสามัญ | วงศ์ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | *Abacarus sacchari* Chann. | *Saccharum officinarum* Linn. | อ้อย | Poaceae |
| 2 | *Aculus moringae* Chann. | *Moringa oleifera* Lamk. | มะรุม | Moringaceae |
| 3 | *Calacarus jasmini* Chak.&Mon. | *Jasminum sambac* Ait. | มะลิลา, มะลิซ้อน | Oleaceae |
| | | *Jasminum multiflorum* [Burman.f] Andrews | มะลิพวง | Oleaceae |
| 4 | *Eriophyes padi* (Schlechtendal) | *Prunus cerasoides* D.Don | พญาเสือโคร่ง | Rosaceae |
| 5 | *Phyllocoptruta musae* K | *Musa sapientum* Linn. | กล้วยน้ำว้า, กล้วยไข่ กล้วยหอม, กล้วยหักมุก | Musaceae |
| 6 | *Spinacus pagonis* K | *Mangifera indica* Linn. | มะม่วง | Anacardiaceae |
| 7 | *Thamnacus euphorbiae* Chann. | *Breynia vitis-idaea* Fischer | ผักหวานตัวผู้ | Euphorbiaceae |
| | | *Breynia nivosa* Small | ผักหวานใบเข้ม | Euphorbiaceae |
| | | *Sauropus androgynus* Merr. | ผักหวานใบเขียว | Euphorbiaceae |

พืชที่พบว่าไรสี่ขาถูกเชื้อรา *H. thompsonii* เข้าทำลายและสามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้ คือ กระท้อน กระทัง กระทุ่ม กระทุ่มคลอง กล้วย กล้วยน้ำว้า ก่อยาว กุ่มบก ขยุ้มตีนหมา ข่อย ขันทองพยาบาท แขม ไข่เน่า คัดเค้า แคฝรั่ง เงาะ จามจุรี จิงจ้อกลม ชมพู่ ชะพลู ดาหลา เดื่อหูกวาง แดง ตะโก ตะค้อหนาม ตะเคียน ตะแบก ตานหม่อน ตุ้มแต๋น เต็ง เต็ม ประดู่ส้ม เถากระไดลิง ทองหลางป่า เทียนหยด ไทรใบต่าง ไทรยอดทอง บอน บอระเพ็ด ปรงไข่ ปรงทะเล ประคำดีควาย ประดู่ส้ม ปีบ เปล้าใหญ่ ผักบุ้งทะเล ผักแส้ว ผักหวาน พญาสัตบรรณ พฤกษ์ เพกา มะกอกน้ำ มะกอกฝรั่ง มะขามป้อม มะขามป้อม มะค่าแต้

## ชีววิทยาและเขตการแพร่กระจายของไรสี่ขา

จากการสำรวจไรสี่ขาพบว่า ไม้ผลและพืชสมุนไพรหลายชนิดที่ถูกไรสี่ขาดูดกินน้ำเลี้ยง จะแสดงอาการผิดปกติ อาการที่พบมาก คือ “สีสนิม” รองลงมา ได้แก่ การสร้างแผงขนกำมะหยี่และการสร้างปมตามใบพืช การศึกษาวงจรชีวิตเลือกใช้เฉพาะไรที่ทำให้เกิดอาการสีสนิมบนใบ ยกเว้นไรสี่ขาบนขี้เหล็กบ้าน ซึ่งทำให้ฝักขี้เหล็กเกิดอาการสีสนิม และไรบนรางจืดซึ่งเป็นไรจรจัด การเลี้ยงไรทุกชนิดกระทำบนใบพืชเท่านั้น ไรสี่ขาและพืชอาศัยที่ทำการศึกษาวงจรชีวิต ได้แก่ *Phyllocoptes azadirachtae* เลี้ยงบนใบสะเดาไทย สะเดาอินเดีย และสะเดาช้าง *Circaces citri* เลี้ยงบนใบมะนาว และมะกรูด *Aculops cratevi*เลี้ยงบนใบกุ่มบก *Calepitrimerus piperus* เลี้ยงบนใบชะพลู *Calacarus* sp. เลี้ยงบนใบน้อยหน่า *Tegoprionus cassii* เลี้ยงบนใบขี้เหล็ก *Vilaia thunbergiae* เลี้ยงบนใบรางจืด

ผลการศึกษาชีววิทยาของไรพบว่า รูปร่าง ลักษณะ การดำรงชีวิต รวมทั้งการขยายพันธุ์ของไรสี่ขาจะแตกต่างจากไรศัตรูพืชชนิดอื่น ไรสี่ขาเพศเมียจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ บนใบพืช โดยเฉพาะบริเวณที่ขรุขระหรือใกล้ๆ เส้นใบ ระยะการเจริญเติบโตของไรสี่ขา ประกอบด้วย ระยะไข่ ระยะตัวอ่อน ระยะวัยรุ่น และตัวเต็มวัย

ไข่ของไรทุกชนิดที่ศึกษา ใช้เวลาฟักประมาณครึ่งหนึ่งของช่วงเวลาทั้งหมดที่ใช้ในการดำเนินชีวิตจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัย ไข่ของไรที่มีอัตราการฟักสูงกว่า 90% ได้แก่ ไข่ของไรขี้เหล็ก ไรชะพลู และ ไร *P. azadirachtae* บนใบสะเดาไทยและสะเดาช้าง มีอัตราการฟักสูงถึง 95-96% และไรน้อยหน่ามีอัตราการฟักของไข่ 91% สำหรับไร *C. citri* บนใบมะนาวและไรรางจืดมีอัตราการฟักไข่ต่ำที่สุดคือ 74-75%

ไรที่เจริญเติบโตเร็วที่สุดคือ ไรกุ่มบก ใช้เวลาพัฒนาจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเพียง 4.97$\pm$0.23 วัน รองลงมาคือ ไรขี้เหล็ก ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 6.14$\pm$0.57 วัน ส่วนไรที่ใช้เวลาในการเจริญเติบโตนานที่สุด คือ ไรน้อยหน่า ใช้เวลา 10.26$\pm$1.02 วัน

ไร *C. citri* ซึ่งเลี้ยงบนใบมะกรูดและมะนาว จะใช้เวลาในการเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตใกล้เคียงกัน คือ 7.35$\pm$0.63 และ 7.47$\pm$0.82 วัน ตามลำดับ ส่วนไร *P. azadirachtae* ซึ่งเป็นศัตรูของสะเดาต่างๆ จะเจริญเติบโตได้ดีบนใบสะเดาไทยและสะเดาช้าง โดยใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 7.8-7.9 วัน แต่จะต้องใช้เวลานานถึง 9.38 วัน เมื่อเลี้ยงบนใบสะเดาอินเดีย ไรเพศผู้ทุกชนิดยกเว้นไรน้อยหน่าจะเจริญเติบโตเร็วกว่าไรเพศเมียเล็กน้อย การศึกษาอายุขัยของไรที่ไม่มีการผสมพันธุ์พบว่า ไรเพศผู้ทุกชนิดที่ศึกษาจะมีอายุขัยสั้นกว่าไรเพศเมีย

โดยทั่วไป อัตราการตายของไรจะพบมากในระยะตัวอ่อนมากกว่าระยะอื่นๆ โดยเฉพาะไร *P. azadirachtae* บนใบสะเดาช้างและสะเดาอินเดีย ซึ่งมีอัตราการตายในระยะนี้ประมาณ 28-31% รองลงมา คือ ระยะตัวอ่อนของไรน้อยหน่า ซึ่งมีอัตราการตายประมาณ 21% ไรสี่ขาที่มีอัตราการตายระหว่างการเจริญเติบโตน้อยที่สุด โดยมีอัตราการอยู่รอดเป็นตัวเต็มวัยสูงสุด ได้แก่ ไรขี้เหล็ก มีอัตราการอยู่รอดสูงถึง 93.83% รองลงมาคือ ไร *P. azadirachtae* บนใบสะเดาไทย ซึ่งมีอัตราการอยู่รอด 88.99% ส่วนไรที่อยู่รอดเป็นตัวเต็มวัยต่ำกว่า 60% ได้แก่ ไรรางจืด ไรน้อยหน่า ไร *C. citri* บนใบมะนาว และ ไร *P. azadirachtae* บนใบสะเดาช้างและสะเดาอินเดีย ทั้งนี้ ไร *P. azadirachtae* บนใบสะเดาอินเดียและไรรางจืด มีอัตราการอยู่รอดเป็นตัวเต็มวัยเพียง 42-43% เท่านั้น

**อัตราการขยายพันธุ์ของไรที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์**

โดยทั่วไป ไรที่มีอายุขัยยืนยาวจะผลิตไข่ได้มากกว่าไรที่มีอายุขัยสั้น อย่างไรก็ตาม ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องด้วย เช่น ระยะวางไข่ (oviposition period) รวมถึงชนิดหรือคุณภาพของพืชอาหารด้วย

การศึกษาอายุขัยของไรเพศเมียพบว่า ไร *P. azadirachtae* บนสะเดาอินเดีย สะเดาไทย และสะเดาช้าง มีอายุขัยยาวกว่าไรสี่ขาชนิดอื่นๆ โดยไรบนสะเดาอินเดียมีอายุขัยเฉลี่ยสูงสุดคือ 15.24±3.13 วัน อายุขัยของไรชนิดนี้จะลดลงเหลือเพียง 13.06±1.65 และ 12.06±3.19 วัน เมื่อเลี้ยงบนใบสะเดาไทยและสะเดาช้าง ตามลำดับ ไรเพศเมียที่มีอายุขัยประมาณ 10 วัน ได้แก่ ไรกุ่มบก ซึ่งมีอายุขัยเฉลี่ย 10.86±1.17 วัน รองลงมา คือ ไร *C. citri* บนใบมะนาวและมะกรูด ซึ่งมีอายุขัยโดยเฉลี่ยใกล้เคียงกัน คือ 10.35±1.31 วัน และ 10.22±1.28 วัน ตามลำดับ สำหรับไรเพศเมียอื่นๆ ล้วนมีอายุขัยต่ำกว่า 10 วัน โดยไรขี้เหล็กมีอายุสั้นที่สุดคือ 6.81±0.54 วัน

ไรเพศเมียทุกชนิดต้องการระยะเวลาช่วงหนึ่งก่อนวางไข่ใบแรก (pre-oveposition period) การศึกษาพบว่า ไรที่เริ่มวางไข่ได้เร็วที่สุดคือ ไร *P. azadirachtae* บนใบสะเดาไทย ซึ่งใช้เวลาก่อนวางไข่เพียง 0.63±0.39 วัน รองลงมา ได้แก่ ไรบนใบสะเดาช้าง ไรกุ่มบก และไรชะพลู ซึ่งมีระยะก่อนวางไข่เฉลี่ย 0.81, 0.91 และ 0.94 วัน ตามลำดับ ส่วนไรที่มีระยะก่อนวางไข่นานที่สุด คือ ไรบนใบสะเดาอินเดีย ซึ่งมีระยะก่อนวางไข่ 1.68±0.95 วัน

ไร *P. azadirachtae* บนใบสะเดาไทยมีระยะวางไข่ (oviposition period) นานที่สุด คือ 11.28±1.55 วัน รองลงมา คือไรชนิดเดียวกันนี้ที่เลี้ยงด้วยใบสะเดาอินเดียและสะเดาช้าง มีระยะวางไข่โดยเฉลี่ยประมาณ 8.53 และ 8.94 วัน สำหรับไรกุ่มและไร *C. citri* บนใบมะกรูดและมะนาว มีระยะวางไข่โดยเฉลี่ยประมาณ 7.5–7.85 วัน ไรที่มีระยะเวลาวางไข่สั้นที่สุด คือ ไรรางจืด ซึ่งมีระยะเวลาในการวางไข่เพียง 2.62±1.68 วัน เท่านั้น

ไรสี่ขาวางไข่ที่มีขนาดใหญ่มากเมื่อเทียบกับลำตัว ดังนั้น อัตราการวางไข่/ตัว/วัน ของไรสี่ขาจึงค่อนข้างต่ำ โดยมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 0.92–1.95 ฟอง/ตัว/วัน เท่านั้น ไรสี่ขาส่วนใหญ่จะวางไข่ได้ประมาณ 1-4 ฟอง/วัน ยกเว้นไร *P. azadirachtae* ที่เลี้ยงบนใบสะเดาไทยและสะเดาช้าง ซึ่งวางไข่ได้ 1-7 ฟอง/วัน ไรบนใบสะเดาไทยผลิตไข่ได้สูงสุด คือ 21.81±4.18 ฟอง/ตัว แต่เมื่อเลี้ยงบนใบสะเดาอินเดียและสะเดาช้างจะทำให้การผลิตไข่ลดน้อยลง โดยผลิตไข่ได้เพียง 7.65±3.46 และ 12.44±2.85 ฟอง/ตัว ตามลำดับ ไรกุ่มบกผลิตไข่ได้ 10.88±2.89 ฟอง/ตัว ในขณะที่ไร *C. citri* วางไข่ได้ 8.25±1.77 และ 7.91±1.70 ฟอง/ตัว บนใบมะนาวและมะกรูด ตามลำดับ ส่วนไรรางจืด ไรน้อยหน่า และไรชะพลูมีอัตราการผลิตไข่ที่ค่อนข้างต่ำ โดยวางไข่ได้ประมาณ 4 ฟอง/ตัว

ไรบนใบสะเดาอินเดียมีระยะหลังวางไข่ (post-oviposition period) นานที่สุด คือ 5.03±2.61 วัน รองลงมาคือไรน้อยหน่าและไรชะพลู ใช้เวลา 3.29±1.37 และ 2.94±1.88 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ไรขี้เหล็กวางไข่จนเกือบสิ้นอายุขัย โดยมีระยะหลังวางไข่เพียง 0.94±0.36 วัน ส่วนไรสี่ขาอื่นๆ มีระยะหลังวางไข่อยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกัน

ผลสรุปจากการศึกษาพบว่า ทั้งไรจรจัดและไรที่ทำอันตรายต่อพืชทุกชนิดที่ศึกษา มีวงจรชีวิตใกล้เคียงกันมาก (ระหว่าง 7-9 วัน) ซึ่งนับว่าเจริญเติบโตได้รวดเร็วที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 58% ถึงแม้ว่าไรสี่ขาจะมีอัตราการวางไข่ไม่สูงมากนัก โดยวางไข่เฉลี่ย 1-4 ฟอง/วัน แต่เมื่อไรสามารถเจริญเติบโตได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว ก็ส่งผลให้มีการแพร่ระบาดได้เร็วขึ้นเช่นกัน ผลการศึกษาวงจรชีวิตของไรเหล่านี้ใกล้เคียงกับการศึกษาไรสนิมส้ม ไรกระเทียม ไรลิ้นจี่ และไรลำใยที่มีผู้ศึกษาไว้ในประเทศไทย ข้อมูลเหล่านี้สามารถนำไป

ประกอบการพิจารณาวางตารางเวลาป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีได้เป็นอย่างดี การที่รู้ว่าไรมีวงจรชีวิตสั้น ทำให้การใช้สารเคมีต้องกระทำบ่อยครั้งขึ้น ผลที่ตามมาคือ ไรจะเริ่มต้านทานยา และผลตกค้างของสารเคมีในสภาพแวดล้อมก็จะส่งผลกระทบถึงผู้ผลิตและผู้บริโภคด้วยเช่นกัน

**บทสรุป**

การสำรวจไรสี่ขาในภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างเดือนละ 2 ครั้ง พบว่า พืชชนิดต่างๆ ได้แก่ ไม้ผล ไม้ดอก ไม้ประดับ พืชสมุนไพร ไม้ป่า พืชไร่ พืชผัก และวัชพืช มีไรสี่ขาอาศัยอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ปริมาณของไรที่พบไม่ได้เป็นข้อบ่งชี้ว่า ไรสี่ขาชนิดนั้นๆ จะเป็นศัตรูพืช หรือทำให้พืชเกิดอาการผิดปกติเสมอไป เช่น ไรสี่ขาบนรางจืด บอระเพ็ด มะลิ พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู เล็บมือนาง และปีป มักพบในปริมาณมาก แต่พืชไม่แสดงอาการผิดปกติให้เห็น นักอนุกรมวิธานของไรสี่ขาจึงเรียกไรเหล่านี้ว่า ไรจรจัด

งานด้านอนุกรมวิธานของไรสี่ขาในประเทศไทย เริ่มขึ้นในช่วงปี ค.ศ.1971-1977 โดย H.H. Keifer และ L.C. Knorr ผู้ตีพิมพ์ผลงานการค้นพบไรสี่ขา 23 สกุล 35 ชนิด ใน Eriophyid Mites of Thailand เมื่อปี ค.ศ.1978 รายงานนี้มีไรสี่ขาจำนวน 7 สกุล 27 ชนิด ที่เป็นไรชนิดใหม่ของโลก หลังจากนั้นมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับอนุกรมวิธานของไรศัตรูพืชในประเทศไทย โดยกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กองกีฏวิทยาและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ซึ่งพบไรสี่ขารวม 10 ชนิด ทำลายกระเทียม กระท้อน ส้มโอ ส้มเขียวหวาน ลิ้นจี่ ลำไย มะม่วง พุทรา และไผ่ ในจำนวนนี้เป็นไรที่ได้รับการตั้งชื่อแล้ว แต่สำรวจพบในประเทศไทยเป็นครั้งแรก จำนวน 4 ชนิด และเป็นไรชนิดใหม่ของโลก 1 ชนิด นอกจากนั้นยังมีรายงานการแพร่ระบาดของไร *Acalitus adoratus* K บนใบสาบเสือ (Napompeth et al., 1988) อีกด้วย

การศึกษาอนุกรมวิธานของไรสี่ขาในประเทศไทยได้เริ่มขึ้นอีกครั้ง โดยผู้วิจัยและ Professor Jan Boczek ได้รวบรวมและวิเคราะห์ชนิดของไรสี่ขาในประเทศไทยตั้งแต่ปี ค.ศ.1989 เป็นต้นมา เมื่อรวมผลงานการสำรวจไรสี่ขาโดย Keifer and Knorr และผลงานของผู้วิจัยนับถึงปี ค.ศ.1997 มีการค้นพบไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกเป็นจำนวน 23 สกุล 97 ชนิด เป็นไรที่ค้นพบและตั้งชื่อโดยผู้วิจัยและ Boczek จำนวน 16 สกุล 70 ชนิด

ปัจจุบันผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์ชนิดของไรสี่ขาที่รวบรวมได้ไว้อีกบางส่วน เนื่องจากต้องใช้เวลาในการวาดภาพ และการค้นหาเอกสารอ้างอิง ขณะนี้ผู้วิจัยได้ตีพิมพ์ผลการค้นพบไรสี่ขาชนิดใหม่ของโลกไว้อีก จำนวน 66 ชนิด กำลังรอตีพิมพ์อีก 16 ชนิด และกำลังอยู่ในระหว่างการจัดเตรียมต้นฉบับอีก 12 ชนิด รวมเป็นไรที่ได้รับการวิเคราะห์ชื่อแล้วในโครงการปัจจุบัน 94 ชนิด โดยจัดเป็นไรสกุลใหม่ของโลก 24 สกุล และยังมีตัวอย่างไรสี่ขาอีกเป็นจำนวนมากที่ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์ชื่อ

การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไรสี่ขาในประเทศไทยมีน้อยมาก จากการตรวจสอบเอกสารพบว่า ได้มีผู้ศึกษาไรสี่ขาซึ่งเป็นศัตรูสำคัญของส้มเขียวหวาน ลิ้นจี่ ลำไยและกระเทียม (วัฒนา และคณะ, 2526, 2528; เทวินทร์ และฉัตรชัย, 2537; เทวินทร์และมานิตา, 2539; มานิตา และคณะ, 2528)

การทดลองเลี้ยงไรสี่ขา 7 ชนิด บนพืชอาศัย 10 ชนิด ในครั้งนี้พบว่า ไรทุกชนิดเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ในสภาพห้องทดลอง ระยะการเจริญเติบโตของไรสี่ขา ประกอบด้วย ระยะไข่ ระยะตัวอ่อน ระยะวัยรุ่น และระยะตัวเต็มวัย ไรทุกระยะจะมีขาเพียง 2 คู่ หรือ 4 ขา ซึ่งแตกต่างกับไรศัตรูพืชอื่นๆ ที่มีขา 4 คู่ ไรสี่ขาเพศเมียมีชีวิตอยู่ได้นานกว่าไรเพศผู้เล็กน้อย ไรสี่ขามีการขยายพันธุ์แบบ parthenogenesis โดยไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์สามารถฟักออกเป็นตัวได้ อัตราการขยายพันธุ์ของไรสี่ขาทุกชนิดค่อนข้างต่ำ เนื่องจากไข่ของไรมีขนาดใหญ่มาก ทำให้ไรสี่ขาวางไข่ได้วันละ 1–4 ฟอง จากการศึกษาพบไรบางชนิดเท่านั้นที่อาจวางไข่ได้ถึง 7 ฟอง/วัน อย่างไรก็ตาม การวางไข่ถึง 7 ฟอง/วัน จะพบน้อยมาก ผลการศึกษาวงจรชีวิตและอัตราการขยายพันธุ์ของไรสี่ขาทั้ง 7 ชนิด มีความใกล้เคียงกับการศึกษาที่ได้มีผู้รายงานไว้แล้วในไรสี่ขาศัตรูพืชชนิดอื่นๆ (วัฒนา และคณะ, 2526, 2528; เทวินทร์ และฉัตรชัย, 2537; เทวินทร์ และมานิตา, 2539; มานิตา และคณะ, 2528; Chandrapatya, 1987)

ไรสี่ขามีความเฉพาะเจาะจงต่อพืชสูงมาก อย่างไรก็ตาม ประเทศไทยมีภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช จึงทำให้พบพืชอาศัยซ้ำๆ กันในหลายพื้นที่ จากการสำรวจไรบนพืชอาศัยชนิดเดียวกันในหลายท้องที่พบว่า มีโอกาสสูงที่จะพบไรชนิดเดียวกันอยู่บนพืชอาศัยในท้องที่ต่างๆ กัน จึงสรุปได้ว่า ไรสี่ขาแต่ละชนิดสามารถแพร่กระจายได้บนพืชอาศัยในท้องที่ต่างๆ

ปัจจุบันข้อมูลด้านชื่อวิทยาศาสตร์ของไร ไม่ว่าจะเป็นไรสี่ขาซึ่งจัดว่าเป็นศัตรูพืช ไรชนิดอื่นๆ เช่น ไรศัตรูพืช ไรในน้ำ ไรในดิน และไรในผลิตภัณฑ์โรงเก็บต่างๆ แทบจะไม่มีเลย เมื่อเกิดปัญหาการปนเปื้อนของไรในผลิตภัณฑ์ต่างๆ การแพร่ระบาดของไร หรือการที่มีไรติดเข้ามากับผลิตภัณฑ์หรือพืชนำเข้า ประเทศไทยก็ยังไม่มีผู้เชี่ยวชาญที่จะตรวจหาชื่อที่ถูกต้องได้ จึงทำให้การป้องกันกำจัดและการสืบค้นข้อมูลต่างๆ ที่เคยมีผู้ศึกษาไว้แล้วเป็นไปได้ค่อนข้างช้า งานด้านอนุกรมวิธานของไรสี่ขาเป็นงานที่ใช้เวลามาก เนื่องจากไรสี่ขาเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า การเก็บตัวอย่างไรจึงต้องใช้ทั้งทักษะที่ได้รับการฝึกฝนและความอดทนในการตรวจหาไร นอกจากนั้น การแยกไรออกจากพืชต้องรีบทำภายในวันเดียวกับที่เก็บตัวอย่าง เนื่องจากไรจะสูญหายได้ง่ายเพราะมีขนาดเล็กมาก การเขี่ยไรแต่ละครั้งต้องใช้ขนตาติดปลายไม้ เพื่อทำการเคลื่อนย้ายไรลงในน้ำยาต่างๆ หลายขั้นตอน การจัดเตรียมสไลด์และการวาดภาพก็ต้องใช้ความชำนาญเป็นพิเศษจึงจะกระทำได้ถูกต้อง ด้วยความยากลำบากนี้เอง ทำให้หาผู้สนใจศึกษาด้านนี้ได้ยากยิ่ง ประกอบกับการฝึกฝนในแต่ละขั้นตอนต้องใช้ทั้งเวลาและความอดทนมาก ปัจจุบันโครงการมีบุคลากรที่ได้รับการฝึกฝนจนสามารถกระทำการต่างๆ ได้เป็นอย่างดีแล้ว แต่เมื่อจบโครงการก็ต้องแยกย้ายกันไป นับเป็นการสิ้นเปลืองเวลาและแรงงานในการฝึกบุคลากรด้านนี้เป็นอย่างมากมาก

การตีพิมพ์ผลงานก็เป็นสิ่งสำคัญยิ่งต่อการนำเสนอสิ่งที่ค้นพบให้โลกได้รับทราบ ถึงแม้ว่าไรสี่ขาจะมีพืชอาศัยที่จำกัด แต่การที่พืชชนิดเดียวกันสามารถเจริญเติบโตได้ในหลายประเทศ ก็ทำให้ประเทศอื่นๆ ที่มีพืชชนิดเดียวกันมีโอกาสพบไรชนิดเดียวกันได้ด้วย การหาเอกสารอ้างอิงจึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อป้องกันการวิเคราะห์ชนิดของไรซ้ำซ้อนกับที่ผู้อื่นได้ทำไว้แล้ว อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันห้องสมุดในประเทศไทยมีเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาด้านไรสี่ขาน้อยมาก ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาทางอนุกรมวิธานหรือด้านอื่นๆ นอกจากนั้น เอกสารที่มีอยู่ก็ขาดความสมบูรณ์ในหลายส่วน เช่น ภาพวาดไม่ชัดเจน ทำให้การเปรียบเทียบตัวอย่างเป็นไปได้ยากขึ้น นอกจากนั้น การตีพิมพ์ผลงานแต่ละครั้งต้องมีค่าใช้จ่าย ไม่ว่าจะเป็นการจัดทำต้นฉบับ การตรวจแก้ต้นฉบับ และค่าจัดพิมพ์ตามที่วารสารเป็นผู้กำหนดไว้ การตีพิมพ์ผลงานการค้นพบไรสี่ขาชนิดใหม่ในวารสารภายในประเทศจะมีปัญหาด้านผู้ทรงคุณวุฒิ ที่จะพิจารณาผลงานว่ามีความถูกต้องหรือไม่ เนื่องจากยังไม่มีผู้ทำงานด้านอนุกรมวิธานของไรสี่ขาในประเทศไทย ซึ่งสามารถจะพิจารณาผลงานได้

ในภาพรวม โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งเป็นหน่วยงานสำคัญในการส่งเสริมกิจกรรมด้านการศึกษาอนุกรมวิธาน ควรให้การสนับสนุนในด้านต่างๆ ดังนี้

1. สนับสนุนทุนวิจัยด้านอนุกรมวิธานของพืชและสัตว์ทุกกลุ่มอย่างต่อเนื่อง โดยไม่มุ่งเน้นเฉพาะโครงการที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงเศรษฐกิจแต่เพียงอย่างเดียว และควรสนับสนุนงานวิจัยเพื่อการสร้างองค์ความรู้พื้นฐานด้วย
2. ควรให้การสนับสนุนทุนวิจัยเป็น package เช่น กลุ่มไรและเห็บ กลุ่มแมลงศัตรูพืช กลุ่มแมลงในน้ำ กลุ่มแมลงทางการแพทย์ โดยสนับสนุนทั้งงานวิจัยพื้นฐานและการนำไปใช้ประโยชน์
3. สนับสนุนการสร้างบุคลากรที่มีความสนใจในงานด้านอนุกรมวิธาน ทั้งด้านการสร้างนักวิจัยและระดับ technician เพื่อช่วยให้งานวิจัยดำเนินไปได้อย่างต่อเนื่อง
4. ให้การสนับสนุนเงินทุนในการจัดหาเอกสารอ้างอิงจากต่างประเทศ ซึ่งมีความจำเป็น รวมทั้งสนับสนุนการตีพิมพ์ผลงานวิชาการในวารสารต่างประเทศ
5. จัดฝึกอบรมด้านอนุกรมวิธาน โดยเชิญผู้เชี่ยวชาญทั้งในและต่างประเทศมาเป็นวิทยากรฝึกอบรม และควรเน้นการฝึกภาคสนามด้วย
6. สนับสนุนการจัดพิมพ์ผลงานเป็นรูปเล่ม ซึ่งอาจอยู่ในรูปของ catalog, key ฯลฯ
7. สนับสนุนให้ผู้วิจัยและนักศึกษาในโครงการมีโอกาสไปฝึกอบรมระยะสั้นกับผู้เชี่ยวชาญในต่างประเทศ
8. จัดตั้งเครือข่ายของนักวิจัยด้านอนุกรมวิธานของพืช สัตว์ ฯลฯ ในประเทศไทย เพื่อการแลกเปลี่ยนข้อมูล ข่าวสาร และการให้ความร่วมมือซึ่งกันและกัน

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ 140020 และขอขอบคุณ รศ.จิรายุพิน จันทร์ประสงค์ คุณจำลอง เพ็งคล้าย คุณจารุจินต์ นภีตะภัฏ และนักอนุกรมวิธานด้านพืชในท้องที่อีกหลายท่าน ในการจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ของพรรณไม้ชนิดต่างๆ ที่รวบรวมได้ รวมทั้งเจ้าของสถานที่ต่างๆ โดยเฉพาะสถาบันการศึกษา สถานีทดลองพืชไร่ สถานีทดลองพืชสวน สวนสมุนไพร และสวนพฤกษศาสตร์ทุกแห่ง

## เอกสารอ้างอิง

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์. 2537. การสำรวจความเสียหายของกระท้อนที่เกิดจากไรสี่ขา.ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 147-151.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และมานิตา คงชื่นสิน. 2539. ปริมาณไรสนิมส้มและศัตรูธรรมชาติในสวนส้มโอที่มีการป้องกันกำจัดโดยใช้สารสกัดจากสะเดาและที่ใช้สารเคมี. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 103-114.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี และมานิตา คงชื่นสิน. 2538. ประสิทธิภาพของสารฆ่าไรและสารสกัดจากสะเดาต่อไรสนิมส้มและผลกระทบต่อศัตรูธรรมชาติ. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 241-249.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี และมานิตา คงชื่นสิน. 2539. การประเมินความเสียหายของส้มโอที่เกิดจากไรสนิมส้ม. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 201-212.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, นวลศรี วงษ์ศิริ, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์ และมารศรี จีระสมบัติ. 2533. การศึกษาความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของไรสนิม *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) บนผลของส้มเขียวหวาน. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-10.

มานิตา คงชื่นสิน, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, วัฒนา จารณศรี, ฉลองชัย แบบประเสริฐ และรักเกียรติ ชอบเกื้อ. 2529a. การศึกษาหาอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารฆ่าไร mexacarbate และ sulfur ในการป้องกันและกำจัดไรศัตรูกระเทียม. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-6.

มานิตา คงชื่นสิน, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, วัฒนา จารณศรี และเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์. 2528. การศึกษาการทำลายของไรกำมะหยี่ที่มีผลต่อการผลิตช่อดอกและการติดผลของลิ้นจี่. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-3.

มานิตา คงชื่นสิน, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, วัฒนา จารณศรี และเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์. 2529b. การศึกษาการทำลายของไรกำมะหยี่ที่มีผลต่อการผลิตช่อดอกและการติดผลของลิ้นจี่. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-5.

มานิตา คงชื่นสิน, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, วัฒนา จารณศรี, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, นวลศรี วงษ์ศิริ, ฐิติ รอดประเสริฐ และสะอาด พงษ์สุวรรณ. 2531. การศึกษาการสูญเสียผลผลิตของกระเทียมเนื่องมาจากการทำลายของไรกระเทียม. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 245-253.

มานิตา คงชื่นสิน, วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์ และจารุวรรณ ศุภเสถียร. 2530a. ประสิทธิภาพของสารฆ่าไรบางชนิดเมื่อใช้ป้องกันและกำจัดไรศัตรูกระเทียมในสภาพไร่. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-8.

มานิตา คงชื่นสิน, วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์ และฐิติ รอดประเสริฐ. 2530b. การป้องกันกำจัดไรศัตรูกระเทียมบนหัวกระเทียม. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-8.

วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, ชะเล็ก เสรีพันธ์พาณิช และนวลศรี วงษ์ศิริ. 2526. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานและชีววิทยาของไรกระเทียมในประเทศไทย. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-12.

วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, ชะเล็ก เสรีพันธ์พาณิช และนวลศรี วงษ์ศิริ. 2528. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานและชีววิทยาของไรกระเทียมในประเทศไทย. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-20.

วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และนวลศรี วงษ์ศิริ. 2530. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูส้มเขียวหวานในประเทศไทย. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-5.

วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และนวลศรี วงษ์ศิริ. 2531. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูส้มเขียวหวานในประเทศไทย. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 133-166.

วัฒนา จารณศรี, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, มานิตา คงชื่นสิน และฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์. 2534. การศึกษาอนุกรมวิธานของไรบนส้มโอ. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 152-186.

วัฒนา จารณศรี, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, มานิตา คงชื่นสิน และฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์. 2535a. การศึกษาชนิดและปริมาณไรในสวนส้มโอแปลงบริหารศัตรูพืชและแปลงเกษตรกร. 2535. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 166-190.

วัฒนา จารณศรี และมานิตา คงชื่นสิน. 2539. ชนิดและปริมาณไรบนพุทรา. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 159-186.

วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์. 2535b. การศึกษาอนุกรมวิธานของไรบนมะม่วงในประเทศไทย. ใน: รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 201-206.

อังศุมาลย์ จันทราปัตย์. 2532. การกำจัดไรโดยใช้เชื้อรา. เรื่องน่ารู้สำหรับประชาชน 15: ชมรมนักเรียนทุนมูลนิธิอานันทมหิดล. หน้า 26-32.

Amrine, J. W. jr. 1996. Keys to the World Genera of the Eriophyoidea (Acari: Prostigmata). Indira Publ. House, Michigan, USA.

Amrine, J. W. jr. and T. A. Stasny. 1994. Catalog of the Eriophyoidea (Acarina: Prostigmata) of the World. Indira Publ. House, Michigan, USA.

Baker, G. T. and A. Chandrapatya. 1989. Plant abnormalities induced by eriophyid mites on several species of plants in Thailand. *Journal Electron Microscopy Soceity of Thailand* 3(2): 39-47.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1989a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). I. *Bulletin Polish Academy of Science* 37(4-6): 134-140.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1989b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). II. *Bulletin Polish Academy of Science* 37(4-6): 141-148.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1992a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). VI. *International Journal of Acarology* 18(4): 277-285.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1992b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). X. *Bulletin Polish Academy of Science* 40(4): 261-267.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1992c. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XI. *Bulletin Polish Academy of Science* 40(4): 269-277.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1996a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XVIII. *Bulletin Polish Academy of Science* 44(1-2): 61-70.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1996b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XX. *Bulletin Polish Academy of Science* 44(1-2): 83-92.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1998a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXII. *Acarologia* 39: 135-142

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 1998b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXV. *Bulletin Polish Academy of Science* 46(1): 31-38.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 2000a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXX. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(2): 135-143.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 2000b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXXII. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(3): 197-209.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 2000c. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXXIV. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(3): 225-240.

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 2000d. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXXVII. *Acarologia* (in press)

Boczek, J. and A. Chandrapatya. 2000e. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XLI. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(4): 345-358.

Boczek, J. and A. Chandrapatya.2000f. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XLIII. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(4): 371-382.

Boczek, J. and A. Chandrapatya.2000g. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XLV. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(4): 395-407.

Boczek, J. and D. Knihinicki. 1998. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXVII *Bulletin Polish Academy of Science* 46(3-4): 141-146.

Boczek, J. H., V. G. Shevtchenko and R. Davis. 1989. Generic Keys to World Fauna of Eriophyid Mites (Acarida: Eriophyoidea). Warsaw Agricultural Univ. Press, Warsaw.

Chandrapatya, A. 1987. Some biological and ecological attributes of the citrus rust mite. *In* Problems of Sucking Insect and Mite Pests of Economic Crops in Thailand, Annual Meeting. Entomological Zoology Association of Thailand. pp. 109-127.

Chandrapatya, A. 1994. *Hirsutella thompsonii*: an effective fungal parasite of eriophyid mite in Thailand. 1st Inter. Congress on Science and Technology for Cordial Relationship Among Neibouring Countries. August 18-24. UN Conference Center, Bangkok, Thailand.

Chandrapatya, A. 1995. A role of *Hirsutella* in plant pest management. Workshop on Application of Microbial in Plant Pest Management. November 20-23. Rama Garden Hotel, Thailand.

Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1991a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). IV. *Bulletin Polish Academy of Science* 39(4): 427-433.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1991b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). V. *Bulletin Polish Academy of Science* 39(4): 435-443.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1991c. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). VIII. *Bulletin Polish Academy of Science* 39(4): 445-452.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1993a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea) . VII. *Internatinal Journal of Acarology* 19(1): 69-73.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1993b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XII. *Bulletin Polish Academy of Science* 41(1): 45-52.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1996. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XIX. *Bulletin Polish Academy of Science* 44(1-2): 71-81.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1997a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXI. *Bulletin Polish Academy of Science* 45(1): 11-21.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1997b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXIII. *Bulletin Polish Academy of Science* 45(1): 23-34.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 1998. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXVI. *Bulletin Polish Academy of Science* 46(1): 39-46.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2000a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXIX. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(2): 125-133.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2000b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXXI. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(2): 145-155.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2000c. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXXIII. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(3): 211-223.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2000d. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXXVI. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(3): 225-267.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2000e. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XXXVIII. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(4): 305-318.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2000f. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XLII. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(4): 359-370.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2000g. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XLIV. *Bulletin Polish Academy of Science* 48(4): 383-394.
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2001a. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XLVI. *Bulletin Polish Academy of Science* (in press)
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2001b. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XLVII. *Bulletin Polish Academy of Science* (in press)
Chandrapatya, A. and J. Boczek. 2001c. Studies on eriophyid mites (Acari: Eriophyoidea). XLVIII. *Bulletin Polish Academy of Science* (in press)
Chandrapatya, A. and U. Dilokkunanant. 1988. *Hirsutella thompsonii* (Fisher), a fungal parasite of *Phyllocoptruta oleivora* (Ash.) in Thailand. 4th Asia-Pacific Conference and Workshop on Electron Microscopy, July 31- August 4, Bangkok, Thailand.
Chandrapatya, A. and C. W. McCoy. 1992. Susceptibility of the citrus rust mite, *Phyllocoptruta oleivora* (Ash.) to different strains of *Hirsutella thompsonii* Fisher. Proc. XIX International Congress of Entomology, June 28-July 4, Beijing. pp. 268.
ChannaBasavanna, G. P. 1966. A Contribution to the Knowledge of Indian Eriophyid Mites (Eriophyoidea: Trombidiformes: Acarina). Univ. Agricultural Sciences, Hebbal, Bangalore, India.
Davis, R., C. H. W. Flechtmann, J. H. Boczek and H. E. Barke. 1982. Catalogue of Eriophyid Mites (Acari: Eriophyoidea). Warsaw Agricultural Univ. Press, Warsaw.
Fee, A. L. A. 1834. Memoire sur le groupe des Phylleriees de Fris. pp. 75.
Hong, X-Y. and Z-Q. Zang. 1996. The Eriophyoidea of China: Illustrated Catalog and Identification Keys (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea). Memoirs on Entomology, Gainsville, Florida.
Jeppson, L. R., H. H. Keifer and E. W. Baker. 1975. Mites Injurious to Economic Plants. Univ. Calif. Press.
Keifer, H. H. and L. C. Knorr. 1978. Eriophyid Mites of Thailand. *Bulletin Califonia Department of Agriculture* No.38 (UNDP/FAO THA 74/019)
Lindquist, E. E. and J. W. jr. Amrine. 1996. Systematics, diagnoses for major taxa and keys to families and genera. *In* E.E. Lindquist, M.W. Sabelis and J. Bruin, (eds.), Eriophyoid Mites – Their Biology, Natural Enemies and Control, pp. 33-87. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
Maimala, S., A. Chandrapatya, C. Chamswarng and C. W. Mc Coy. 1999. Preliminary testing of biomass production of *Hirsutella thompsonii* var. *synnematosa*. *Thai Journal of Agricultural Science* 32(2): 229-239.
Napompeth, B., Thi. Hai and A. Winotai. 1988. Attempts on biological control of Siam weed, *Chromolaena odorata* in Thailand. Proceedings First International Biological Control of *Chromolaena odorata*. Bangkok, Thailand, 29 February – 4 March 1988. pp. 57-62.
Oldfield, G. N. 1970. Mite transmission of plant viruses. *Annual Review Entomology* 15: 343-380.
Persoon, C. H. 1797. Tentamen Dispositionis Methodicae Fungorum in Classes, Ordines, Genera et Familias: cum Supplements Adjecto. Wolf, Lipsiae (Leipzig). pp. 76.
Reaumur, R. A. F. de. 1737. Des galles des plantes et des arbres, et des productions qui leur sont. Analoques; des insects qui habitent ces galles, & qui en occasionnent la formation & l' accroissement. *In* Memoires Pour Servir a l' Histoire des Insects, pp. 413-532. Academy Royal of Science. Paris, Vol. 3, Mem. 12.
Slykhuis, J. T. 1969. Mites as vectors of plant viruses. *In* Viruses, Vectors and Vegetation, pp. 121-141. Contrib. 613.
Slykhuis, J. T. 1972. Transmission of plant viruses by eriophyid mites. *In* Kado and Agarwal (eds.), Principles and Techniques in Plant Virology, pp. 204-225. Van Nostrand-Reinhold. Co.

# ความหลากหลายของหนอนพยาธิในลำน้ำแม่สาอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่

**ชโลบล วงศ์สวัสดิ์[1], อำนาจ โรจนไพบูลย์[1], ธนู มะระยงค์[1], สบชัย สุวัฒนคุปต์[1], จิราพร โรจน์ทินกร[2], พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์[1], อดิเทพพรชัย ภาชนะวรรณ[1], กานดา คำชู[1], อรรถพร นิชพันธ์[1], นิพนธ์ หมาดอาหิน[1] และประลองยุทธ ศรีปาลวิทย์[1]**

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง เชียงใหม่ 50202

[2]ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย เชียงใหม่ 50290

**Abstract: Diversity of Helminths in Maesa Stream, Doi Suthep-Pui National Park Chiang Mai Province**

Freswater vertebrates from Maesa Stream, Doi Suthep-Pui National Park, Chiang Mai were collected from January 1997 to 1999. They were 3,900 specimens of 32 fish species, 149 of 9 amphibian and 3 of 3 reptiles. Fifty six species of helminths were recovered: 5 monogenea (*Dactylogyrus* sp.I, *Trianchoratus* sp., *Gyrodactylus* sp., *Diplozoon* sp. and *Dactylogyrus* sp.II); *Allocreadium* sp.I,II *Haplorchoides* sp. (metacercaria; meta), *Posthodiplostomum* sp., *Guahatiana* sp., *Plagiophorus* sp., *Transversotrema patialense*, *Euryhelmis* sp.(meta), *Centrocestus caninus* (meta), *Acanthostomum* sp. (meta), *Genarchopsis goppo*, *Phyllodistomum* sp.I, *Brevicreadium* sp., *Gorgoderina gracilis* n.sp. *Pleurogenoides sphaericus*, *Stellantchasmus falcatus* (meta), *Allocreadium* sp.II, *Haplorchis* sp. (meta), *Urotrema* sp., *Haplorchoides* sp. (adult), *Encyclometra bungara*, *Pleurogenes chiangmaiensis*, *Telorchis* sp., *Mantereilla* sp., *Genarchopsis* sp. (meta), *Phyllodistomum* sp.II, *Phyllodistomum* sp.III and *Ganeo tigrinus*; 6 Cestodes (*Senga chiangmaiensis* n.sp., *Ptychobothrium mystacoleucusi* n.sp., *P. rojanapaibul* n.sp., *P. discusae* n.sp., *Circuonchobothrium baimaii* n.sp.and *Ptychobothrium masae* n.sp.); 3 Acanthocephala a Cystacanth, *Pallisentis* sp. and *Acanthocephalus lucidus*; 15 Nematodes a Cyst *Spinitectus* sp. (larva), *Rhabdochona* sp., *Rhabdochona* sp.I, *Camallannus* sp., *Zanclophorus* sp., *Spinitectus* sp., *Anisakis* sp., Unknown I, Unknown II, *Rhabdochona* sp.II, *Proleptus* sp., *Rhabdochona* sp.III, *Cosmocerca* sp., *Ascaridia* sp. and *Camallanus anabantis*.

Parasites were surveyed once each season for the first year. Prevalence of infection in winter, summer and rainy season, were 42.115%, 53.850% and 66.667% in fish, and 50.000% 0%, 100.00% in reptiles. The highest intensity of a parasite was 8.000 in winter for *Anisakis* sp. (nematode), 6.200 in summer in Brevicreadium sp. (trematode) and *Encyclometra bungara* (trematode) in rainy season was 145.000. In the second year, the vertebrates were investigated every two months. The highest prevalence, 39.894% of fish in January, 66.667% of amphibia in March, none of reptile, were recorded respectively. The highest intensity of parasites in January, March, May, July, September, were recovered of *Pleurogenoides sphaericus* (45.000), *Rhabdochona* sp.I (6.000), *Allocreadium* sp.II (8.000), *Trianchoratus* sp.(11.500), Dactylogyrus sp.II (53.500) and Rhabdochona sp.I (13.000) respectively. Parasitic distribution, relationships between host and parasite, and classification were analyzed by Cluster analysis.

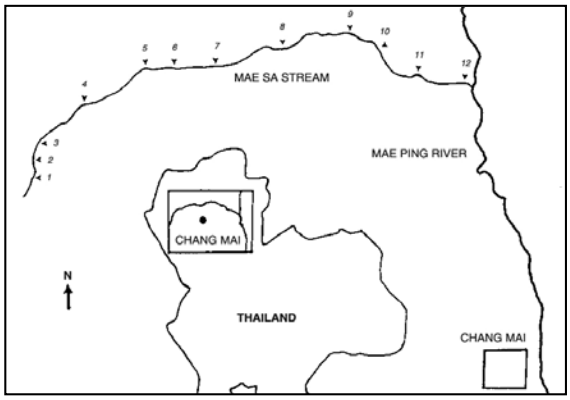
**Key words:** Maesa stream, Doi Suthep- Pui National Park, helminths, fishes, amphibains, reptiles

## บทนำ

การศึกษาหนอนพยาธิในสัตว์น้ำจืดของประเทศไทย มีมูลเหตุเบื้องต้นมาจากปัญหาทางด้านสาธารณสุขเป็นสำคัญ โดยเฉพาะการอุปโภค บริโภคที่ไม่ถูกสุขลักษณะ หนอนพยาธิที่ศึกษานั้นประกอบด้วย พยาธิตัวแบน (trematode) พยาธิปลิงใส (monogenea) พยาธิตัวตืด (cestode) พยาธิตัวกลม (nematode) และพยาธิหัวหนาม (acanthocephala) ซึ่งพบทั้งระยะติดต่อ และตัวเต็มวัย ประเทศไทยมีการศึกษาหนอนพยาธิในปลาเป็นครั้งแรก โดย Pearse (1933) ได้สำรวจปลาน้ำจืด กุ้ง ปู ในเขตกรุงเทพฯ และปากน้ำเจ้าพระยา (สมุทรปราการ) พบพยาธิรวม 20 ชนิด ต่อมา จำลองและคณะ (2504) ได้สำรวจหาเมตาเซอคาเรียจากปลาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี พ.ศ.2500-2503 พบระยะเมตาเซอคาเรีย ของ *Opisthorchis viverrini* ซึ่งพบว่าเป็นพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยในตับคน โดยพบระยะนี้ที่บริเวณเหงือก ลำตัว และครีบของปลาพวก Cyprinoides (ปลาแม่สะแด้ง ปลาตะเพียนขาว ปลาสร้อย ปลากระสูบขีด และปลาขาว) โดยเปอร์เซนต์ infected ของเมตาเซอคาเรียที่พบจากจังหวัดอุดรธานี สกลนคร นครพนม กาฬสินธุ์ มหาสารคาม และขอนแก่น เท่ากับ 38.1, 31.7, 56.7, 19.7, 60.4 และ 23.6% ตามลำดับ

ต่อมา พิณทิพย์ (2521) ได้ศึกษาชนิดของหนอนพยาธิในทางเดินอาหารของปลาน้ำจืด 20 ชนิด จำนวน 300

ตัว ที่บริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ พบพยาธิทั้งหมด 7 สกุล 12 ชนิด เป็น พยาธิตัวกลม 9 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด พยาธิตัวตืด 1 ชนิด และพยาธิใบไม้ 1 ชนิด ประไพสิริ (2526) ได้รายงานการสำรวจพบพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยของ *Transversotrema* sp. เป็นครั้งแรกในประเทศไทย ซึ่งพบตามเมือกบนลำตัวปลานิล ที่ได้จากบ่อเลี้ยงปลาในเขตดุสิต กรุงเทพฯ เมื่อปี พ.ศ.2525 สุปราณี (2526) ได้สำรวจปรสิตของปลาน้ำจืดจำนวน 584 ตัว จากลำน้ำแม่กลอง บริเวณเหนือเขื่อนวชิราลงกรณ์ พบปรสิตทั้งหมด 67 ชนิด เป็น ภาพที่ 1 ชนิด Protozoa 10 ชนิด crustacean 8 ชนิด annelid 1 ชนิด mollusc 1 ชนิด พยาธิตัวแบนโมโนจีเนีย 6 ชนิด พยาธิใบไม้ 7 ชนิด พยาธิตัวแบนภายนอก aspidocotylea ใน family Aspidogastridae 1 ชนิด และพยาธิตัวกลม 12 ชนิด




ภาพที่ 1. จุดเก็บตัวอย่าง (1-12) จากลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่ 1) หมู่บ้านกองแหะ ต. โป่งแยง, 2) สะพานทางเข้าหมู่บ้านกองแหะ, 3) ปางช้างโป่งแยง, จุดที่ 4) บ้านศรีม่วงคำ, 5) หน่วยจัดการต้นน้ำห้วยดีหมี, 6) สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ 7) ปางช้างแม่สา 8) น้ำตกแม่สา 9) สะพานประปาสุขาภิบาลแม่ริม 10) สะพานชลประทาน 11) สะพานบ้านป่าม่วง 12) สะพานแม่สาหลวง

จากข้อมูลการสำรวจจะเห็นว่า การกระจายของพยาธิที่ศึกษาในแต่ละท้องที่ ในปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน สำหรับการศึกษาพยาธิในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดใกล้เคียงก็มีรายงานการศึกษาหนอนพยาธิในปลาและสัตว์น้ำด้วยเช่นกัน ตั้งแต่ปี ค.ศ.1971 Sujjanun and Thitasut (1971) ได้สำรวจพบพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรีย ของ *Opisthorchis* spp. ที่บริเวณครีบ เกล็ด และกล้ามเนื้อของปลาตะเพียนทราย ปลาแก้มช้ำ และปลาซิว จากอำเภอสารภี และสันกำแพง ต่อมา Ratanasritong and Kliks (1972) ได้สำรวจหนอนพยาธิในปลาน้ำจืดจากลำน้ำปิง ที่อำเภอจอมทอง และสถานีประมงน้ำจืด อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ จากปลาจำนวน 95 ตัว พบพยาธิ 12 ชนิด คือพยาธิตัวกลม 4 ชนิด พยาธิตัวตืด 3 ชนิด พยาธิหัวหนาม 2 ชนิด และพยาธิใบไม้ 3 ชนิดจากลำไส้ของปลาดุกด้าน ปลาดุกอุย ปลาหมอไทยและปลาตะเพียนขาว Kliks and Tantachamrun (1974) ได้สำรวจในจังหวัดเชียงใหม่ พบพยาธิใบไม้ระยะ เมตาเซอคาเรีย ของ *Stellantchasmus falcatus* จากครีบปลาเข็ม (*Dermogenys pusillus*) และสามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยในลำไส้เล็กของแมวได้ นอกจากนี้ยังพบ เมตาเซอคาเรีย ของ *Haplorchis yokogawai* และ *Haplorchis taichui* ที่ครีบและกล้ามเนื้อของปลาแก้มช้ำ ปลาตะเพียนขาว และปลาตะเพียนทราย และยังพบตัวเต็มวัยของทั้งสองชนิดนี้ในลำไส้ของแมวและคนด้วย ต่อมา วิรัช (2522) ได้สำรวจตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ (เมตาเซอคาเรีย) ในปลาน้ำจืด 5 ชนิด จากบางท้องที่ของ อำเภอเมือง อำเภอหางดง และอำเภอสันกำแพง ของจังหวัดเชียงใหม่ พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรีย มากถึง 10 ชนิด ประกอบด้วย เมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ *Acanthostomum* sp., *Centrocestus* sp., *Euclinostomum* sp., *Haplorchis* sp.I & II, *Opisthorchis* sp., *Posthodiplostomum* sp. และตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรีย amphistome และ distome ที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้

Wongsawad et al., (1996) ศึกษาและสำรวจตัวอ่อนพยาธิใบไม้จากคูเมืองเชียงใหม่ระยะเวลา 1 ปี พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ที่ติดต่อถึงคนได้ 2 ชนิด คือ *Haplorchis* sp. จากเกล็ดปลาตะเพียนขาว ด้วยค่า prevalence 100% และพบเมตาเซอคาเรียของ *Stellantchasmus* sp. จากปลาเข็ม มีค่า prevalence เท่ากับ 88.04% ชโลบล และคณะ (2539a) ได้ศึกษาการกระจายตัวของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรียในปลา และสัตว์น้ำ ในเขตอำเภอเมือง อำเภอสันทราย อำเภอสันกำแพง อำเภอดอยสะเก็ด และอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอเมือง อำเภอป่าซาง อำเภอบ้านโฮ้ง และอำเภอลี้ จังหวัดลำพูน พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรีย ได้แก่ *Acanthostomum* sp., *Centrocestus* sp., *Echinostoma* sp., *Haplorchis* sp., *Haplorchoides* sp., *Microphalloides* sp., *Opisthorchis* sp., *Posthodiplostomum* sp., *Stellantchasmus* sp. เมตาเซอคาเรียของ Family Allocreadiidae 1 ชนิด และเมตาเซอคาเรียที่

ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ 1 ชนิด ชโลบล และคณะ (2539b) ได้ทำการสำรวจหนอนพยาธิในปลาและสัตว์น้ำ และคุณภาพน้ำบริเวณเขื่อนภูมิพล อำเภอสามเงา จังหวัดตาก พบว่ามีเฉพาะปลาเท่านั้นที่ตรวจพบหนอนพยาธิ ซึ่งแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มพยาธิตัวกลม 4 ชนิด กลุ่มพยาธิหัวหนาม 4 ชนิด และกลุ่มพยาธิตัวแบน 12 ชนิด แบ่งเป็นพวกโมโนจีเนีย 3 ชนิด พยาธิตัวตืด 2 ชนิด และพยาธิใบไม้ 7 ชนิด แบ่งเป็นพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัย ได้แก่ *Allocreadium* sp., *Bucephaloides* sp. และไม่ทราบชนิด 1 ชนิด และพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรีย ได้แก่ *Haplorchis* sp., *Haplorchoides* sp., *Phyllodistomum* sp. และ *Stellantchasmus* sp. สำหรับคุณภาพน้ำทางกายภาพของเขื่อนภูมิพลอยู่ในเกณฑ์ที่ดี ต่อมา Namue et al., (1997) รายงานว่าพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ *Haplorchis* sp. และ *Haplorchoides* sp. ในปลาเกล็ด 7 ชนิด คือ ปลาตะเพียนทราย ปลาตะเพียนขาว ปลาตะเพียนภูเขา ปลาแก้มช้ำ ปลาสร้อย และปลาซิว 2 ชนิด จาก 6 อำเภอของจังหวัดเชียงใหม่ และ 4 อำเภอของจังหวัดลำพูน

ในต่างประเทศก็มีการศึกษาหนอนพยาธิในปลาน้ำจืดกันอย่างแพร่หลายและกว้างขวาง เช่น Ozaki (1925) ได้ทำการศึกษาพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืด และจัดตั้งพยาธิที่พบเป็นจีนัส และสปีชีส์ใหม่ คือ *Genarchopsis goppo* ซึ่งตรวจพบในลำไส้ของปลา *Mogurnda obscura* จากลำน้ำใกล้ ๆ กับตำบล Saijo เมือง Hiroshima ประเทศญี่ปุ่น Moorthy (1937) ได้ศึกษา *Camallanus sweeti* ที่พบจากปลาน้ำจืด *Ophicephalus gachua* พบลักษณะสำคัญ คือมี beaded longitudinal ridges จำนวน 9 อัน มีความยาวเท่าๆ กัน ปลายหางมี mucrons ลักษณะเป็นติ่งยื่นออกมา 3 อัน Peters (1957) ได้ศึกษาพยาธิใบไม้ที่พบจาก Water beetles ซึ่งเป็นชนิดใหม่ของ genus *Allocreadium* มีชื่อว่า *A. neotenicum* พบจากทะเลสาบ Douglas มลรัฐ Michigan สหรัฐอเมริกา ต่อมา Yeh (1960) ได้ทำการรวบรวมพยาธิตัวกลมกลุ่ม Camallanid จากปลาน้ำจืดใน Ceylon ประเทศอินเดีย พบพยาธิ 5 ชนิด เป็นชนิดใหม่ 3 ชนิด และมี 1 ชนิดเป็น genus ใหม่โดยตั้งเป็น *Zeylanema* ในปี 1962 Beverley-Burton ได้ศึกษาพยาธิใบไม้บางชนิดจากปลาตระกูลปลาดุก (*Clarias* spp.) พบพยาธิชนิดใหม่ คือ *Allocreadium mazoensis* n. sp. และ *Eumasenia bangweulensis* n.sp.

หลังจากนั้น Colley and Olsen (1963) สำรวจพบเมตาเซอคาเรียของ *Posthodiplostomum minimum* ที่มีการ infected ในตับ ไต หัวใจ และม้ามในปลา bluegills (*Lepomis macrochirus*) จากบ่อน้ำพัก Lower Otay เมือง San Diego มลรัฐ California สหรัฐอเมริกา Moravec (1968) ศึกษาพยาธิตัวกลมใน genus *Rhabdochona* ในปลาจากประเทศเช็กโกสโลวาเกีย พบพยาธิ 4 ชนิด คือ *R. denudata, R. hellichi, R. phoxini* n.sp. และ *R. ergensi* n.sp. และกล่าวถึง *R. hellichi* ว่าเป็นชนิดแรกที่พบว่าไข่มี filament และอาจใช้ชื่อ Subgenus *Filochona* เพื่อให้แยกต่างจากชนิดอื่นชัดเจน Overstreet (1970) รายงานการพบพยาธิตัวกลมชนิดใหม่ *Spinitectus beaveri* n.sp. ในปลา *Albula vulpes* และอธิบายว่าพยาธิชนิดนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับ *S. carolini* Moravec and Sey (1989) ศึกษาพยาธิใบไม้บางชนิดที่พบในปลาน้ำจืดจากทางตอนเหนือของประเทศเวียดนาม พบหนอนพยาธิที่เป็นปรสิตภายในของปลา 16 ชนิด ในปีเดียวกัน De and Ghosh (1989) ศึกษาลักษณะทาง morphology ของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของ *Camallanus anabantis* และ *Camallanus kulasirii* ในปลา *Anabas testudineus* และ *Ophicephlus punctatus* จาก West Bengal ประเทศอินเดีย

ต่อมา Khan and Bilqees (1990) พบพยาธิ *Allocreadium kalrai* n. sp. จากปลาช่อน (*Channa striatus*) ในทะเลสาบ Kalri ประเทศปากีสถาน Moravec and Scholz (1991) ได้ศึกษาพยาธิตัวกลมบางชนิดในปลาน้ำจืด ประเทศลาว พบพยาธิจำนวน 11 ชนิด เป็นตัวเต็มวัย 7 ชนิด เป็นตัวอ่อน 4 ชนิด ซึ่งพยาธิทั้งหมดนี้รายงานว่าเป็นการตรวจพบครั้งแรกในประเทศลาว Sathyanarayana and Venkatachalam (1993) ได้สำรวจหนอนพยาธิในปลาน้ำจืดที่นิยมใช้เป็นอาหาร จาก Mannampandal area, Mayiladuturai, Tanjore district, รัฐ Tamilnadu ประเทศอินเดีย พบพยาธิ 3 ชนิด Boomker and Puylaert (1994) รายงานพยาธิตัวกลมชนิดใหม่ *Spinitectus* spp. จากปลาน้ำจืด ใน Afrotropical region พบพยาธิ 8 ชนิด ต่อมา Moravec and Nagasawa (1998) ศึกษาหนอนพยาธิจาก rare endemic catfish, *Liobagrus reini* ในประเทศญี่ปุ่นพบพยาธิ 4 ชนิด เป็นพยาธิตัวกลม 3 ชนิด ได้แก่ *Rhabdochona coronacauda*, *R. japonica* และ *Mexiconema liobagri* n.sp.

จะเห็นได้ว่าการศึกษาชนิด และการกระจายของหนอนพยาธิในสัตว์น้ำมีการศึกษากันมากในต่างประเทศ ส่วนในประเทศไทยยังมีไม่มากนัก เนื่องจากขาดผู้เชี่ยวชาญที่จะสามารถบ่งบอกถึงระดับของชนิดหนอนพยาธิได้ การศึกษาความหลากหลายของหนอนพยาธิจึงเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษาอีกหลายด้าน เช่น การศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่ใช้จำแนกความแตกต่างของหนอนพยาธิแต่ละชนิด และในอนาคตอาจจะใช้บ่งบอกถึงสภาพความเป็นอยู่ และนิเวศวิทยาของแหล่งน้ำธรรมชาตินั้น ๆ ได้ โครงการศึกษาหนอนพยาธิในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ในลำน้ำสายสำคัญ เช่น ลำน้ำแม่สา อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย จังหวัดเชียงใหม่นี้ นับเป็นการศึกษาครั้งแรก ที่สำคัญมาก เพราะการศึกษาความหลากหลายของหนอนพยาธิ ทำให้ทราบว่าพยาธิชนิดใดมีโอกาสแพร่กระจายผ่านแหล่งน้ำแห่งนี้ไปสู่คนและสัตว์ที่อยู่สองฝั่งของลำน้ำ นอกจากนี้ยังทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์ และหนอนพยาธิ หนอนพยาธิในแต่ละฤดูกาล การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ และชนิดของพยาธิที่พบ รวมทั้งการแพร่กระจายในแต่ละช่วงเวลาในรอบหนึ่งปีอีกด้วย อันจะเป็นประโยชน์ต่อการควบคุม ป้องกันการแพร่ระบาดของพยาธิ และเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาในขั้นต่อไป เช่น วงจรชีวิต และการตรวจสอบติดตามหาระยะตัวอ่อนโดยวิธีการต่าง ๆ เป็นต้น

## ผลการวิจัย

ผลการศึกษาหนอนพยาธิในลำน้ำแม่สาในปีที่ 1 พบค่า prevalence (ของการพบหนอนพยาธิในสัตว์มีกระดูกสันหลังแต่ละชนิดในลำน้ำแม่สา) สูงสุด 44.40% ในฤดูร้อน ในปีที่ 2 ค่า prevalence สูงสุด 39.89 % เดือนมกราคม 2541 และค่า prevalence ต่ำสุด 20.00% เดือนมกราคม 2542 ปลาที่พบค่า prevalence 100% มากที่สุด คือปลาเข็ม พบ 7 ครั้งจากการสำรวจพบปลา 11 ครั้ง รองลงมา คือปลาหมอไทย พบ 3 ครั้งจากการสำรวจพบปลา 4 ครั้ง

พบหนอนพยาธิทั้งสิ้น 76 ชนิด (ตารางที่ 1) เป็นหนอนพยาธิชนิดใหม่ 6 ชนิด คือ พยาธิตัวตืด 1. *Senga chiangmaiensis* n.sp. 2. *Ptychobotrium mystacoleucusi* n.sp. 3. *P. rojanapaibuli* n.sp. 4. *P. discusae* n.sp. 5. *Circumonchobothrium baimaii* n.sp. 6. *P. maesae* n.sp. ซึ่งได้รับการตอบรับการตีพิมพ์แล้วจากวารสาร Revista di Parassitologia และพยาธิใบไม้ 1 ชนิดคือ *Gorgoderina gracilis* n.sp. พบเป็น new record ที่ได้จากปลาคือ *Urotrema* sp. (Yamaguti, 1958; Schell, 1970) พบชนิดที่สามารถติดต่อถึงคนได้คือ *Stellantchasmus falcatus, Haplorchis* sp. *Centrocestus* sp. (Person, 1964; Klicks and Tantachamrun, 1974; Tantachamrun and Klicks, 1978; Radomyos et al., 1990) ชนิดที่สามารถติดต่อถึงสัตว์ได้เช่น *Acanthostomum* sp. (Karyakarte, 1967) เป็นต้น

ตารางที่ 1. หนอนพยาธิที่พบ

| | |
|---|---|
| พยาธิหัวหนาม | 1. Unknown I 2. *Pallisentis* sp. 3. *Acanthocephalus lucidus* |
| พยาธิตัวตืด | 1. *Senga chiangmaiensis* n.sp. 2. *Ptychobotrium mystacoleucusi* n.sp. 3. *P. rojanapaibuli* n.sp. 4. *P. discusae* n.sp. 5. *Circumonchobothrium baimaii* n.sp. 6. *P. maesae* n.sp. |
| พยาธิปลิงใส | 1. *Dactylogyrus* sp.I 2. *Trianchoratus* sp. 3. *Gyrodactylus* sp. 4. *Diplozoon* sp. 5. *Dactylogyrus* sp.II |
| พยาธิตัวกลม | 1. *Spinitectus* sp. (larva) 2. *Rhabdochona* sp. 3.*Rhabdochona* sp.I 4. *Camallanus* sp. 5. *Zanclophorus* sp. 6. *Spinitectus* sp. 7. *Anisakis* sp. 8. Unknown I 9. Unknown II 10. *Rhabdochona* sp.II 11. *Proleptus* sp. 12. *Cosmocerca* sp. 13. *Ascaridia* sp. 14. *Rhabdochona* sp.III 15. *Camallanus anabantis* |
| พยาธิใบไม้ | 1. *Allocreadium* sp.I, 2. *Haplorchoides* sp.(meta) 3. *Posthostomum* sp. 4.*Gauhatiana* sp. *Plagiophorus* sp. 6. *Transversotrema platialensis* 7. *Euryhelmis* sp. (meta) 8. *Centrocestus* caninus (meta) 9. *Acanthostomum* sp. (meta) 10.*Genarchopsis goppo* 11. *Phyllodistomum* sp.I 12. *Brevicreadium* sp. 13. *Gorgoderina gracilis* n.sp. 14. *Pleurogenoides sphaerecus*. 15. *Stellantchasmus falcatus* (meta) 16. *Allocreadium* sp.II 17. *Haplorchis* sp. (meta) 18. *Urotrema* sp. 19. *Haplorchoides* sp. (adult) 20. *Encylometra bungara* 21. *Plurogenes chiangmaiensis* 22. *Telorchis* sp. 23. *Mantereilla* sp. 24. *Genarchopsis* sp. (meta) 25. *Phyllodistomum* sp.II 26. *Phyllodistomum* sp.III 27. *Ganeo tigrinus* |

ค่า intensity สูงสุด คือ พยาธิใบไม้ *Encyclometra bungara* ที่พบจากงูไซมีค่า 145 รองลงมา คือ พยาธิปลิงใส *Dactylogyrus* sp. II ที่พบจากปลากดเหลืองมีค่า 53.50 พยาธิตัวกลม *Rhabdochona* sp.III พบมีค่า intensity สูงสุดถึง 2 ครั้ง

## บทสรุป

ค่า prevalence ของการพบพยาธิในปีที่ 1 มีค่าสูงสุดในฤดูร้อน 44.40% ค่า prevalence ในปีที่ 2 และ 3 ซึ่งเก็บตัวอย่างเดือนเว้นเดือนมีค่าไม่แน่นอน พบสูงสุดในเดือนมกราคม 2541 เท่ากับ 39.89% รองลงมาเป็นเดือนกรกฎาคม 2541 คือ 38.29% แต่กลับพบว่าเดือนมกราคม 2542 มีค่า prevalence ต่ำสุดเพียง 20.00% อาจมีปัจจัยจากชนิดและจำนวนของปลาที่จับได้แตกต่างกัน ทั้งนี้พบว่าในปีที่ 2 (2541) ปลาบางชนิดมีขนาดเล็กลง (ไม่ได้แสดงข้อมูลในที่นี้) ซึ่งขนาดที่เล็กลงนี้อาจมีผลต่อการ infected ของพยาธิ

ค่า intensity ของพยาธิที่พบสูงสุดในแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่าง เช่น พยาธิปลิงใส *Dactylogyrus* sp.I, sp.II, พบจากปลาที่แตกต่างกัน คือ ปลากดเหลือง และปลาแก้มช้ำ ตามลำดับ พยาธิตัวกลม *Rhabdochona* sp.III พบมีค่า intensity สูงสุดจากปลาถึง 2 ชนิด คือ ปลากระทิง และปลาแก้มช้ำ ขณะนี้อยู่ในระหว่างการตรวจสอบ mouth part ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน พยาธิใบไม้ *Encyclometra bungara* จากงูไซมีค่า intensity สูงสุดถึง 145 แต่จากตัวอย่างเพียง 1 ตัว เพราะงูหายากมากในแหล่งน้ำ และหนีได้ไว

การพบค่า intensity สูงสุดในแต่ละครั้งที่แตกต่างกันหรือซ้ำกัน น่าจะมาจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น การเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งไม่สามารถกำหนดได้ให้มีชนิดและจำนวนสัตว์น้ำเท่ากันได้ทุกครั้ง เพราะวงชีวิตของทั้งสัตว์น้ำและพยาธิแต่ละชนิดอาจแตกต่างกัน บางครั้งก็ไม่ได้ตัวอย่างเลย พยาธิบางชนิดอาศัยโฮสต์กึ่งกลางหลายตัว เช่น พยาธิใบไม้ พยาธิตัวตืด บางชนิดมีโฮสต์กึ่งกลางตัวเดียว เช่น พยาธิตัวกลม บางชนิดไม่มีโฮสต์กึ่งกลาง เช่น พยาธิปลิงใส ดังนั้นชนิดที่ต้องอาศัยโฮสต์กึ่งกลางต้องขึ้นกับสิ่งมีชีวิตอื่นในแหล่งน้ำแห่งนี้ เช่น กุ้ง หอย ปู แมลงน้ำ แอนนิลิด และมีความเกี่ยวพันกับโฮสต์เฉพาะที่อยู่ในแหล่งน้ำหรือนอกแหล่งน้ำ เช่น สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์ปีก และคนเป็นต้น

พยาธิบางชนิดมีการเจริญเติบโตไปพร้อม ๆ กับการเติบโตของโฮสต์ (synchronized) เช่น พยาธิบางชนิดเจริญในกระเพาะปัสสาวะของกบใช้ระยะเวลา 2 ปีจึงครบวงชีวิต ดังนั้นการศึกษาเพื่อทราบการเปลี่ยนแปลงของพยาธิชนิดนี้ควรจะทำด้วยระยะเวลามากกว่า 2 ปี และเพิ่มความถี่ของการเก็บตัวอย่างมากขึ้น สาเหตุของการเก็บตัวอย่างของการศึกษาในครั้งนี้ที่เปลี่ยนมาเก็บตัวอย่างเดือนเว้นเดือน เพราะขนาด และชนิดของปลาลดลง จนเกรงว่าอาจถึงขั้นสูญพันธุ์ได้ นั่นเป็นสิ่งที่นักวิจัยไม่อยากให้เกิดขึ้นแน่นอน หลังจากที่เปลี่ยนมาเก็บตัวอย่างเดือนเว้นเดือน เป็นเวลา 1 ปี พบว่าปริมาณและขนาดของปลาเพิ่มขึ้น

เหตุผลอีกประการหนึ่ง คือ การที่มีโครงการวิจัยที่ต้องเก็บตัวอย่างเหมือนกันในแหล่งเดียวกันในช่วงเวลาเดียวกันย่อมเป็นสาเหตุที่ต้องนำไปพิจารณาว่ามีส่วนทำให้ประชากรสัตว์น้ำลดลงหรือไม่ เพื่อจะได้เป็นบรรทัดฐานการพิจารณาให้ทุนในโอกาสต่อไปด้วย

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 139031

## เอกสารอ้างอิง

จำลอง หะรินสุต, สุวัชร วัชรเสถียร และสุชาติ เจนตเสน. 2504. เมตาเซอคาเรียในปลา ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. จดหมายเหตุทางการแพทย์, 44(9): 612-628.

ชโลบล วงศ์สวัสดิ์, เฉลิม น่าหมู่, ธนู มะระยงค์ และสบชัย สุวัฒนคุปต์. 2539a. การศึกษาการกระจายตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรีย ในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. รายงานการวิจัย, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ชโลบล วงศ์สวัสดิ์, พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์, สบชัย สุวัฒนคุปต์ และธนู มะระยงค์. 2539b. การสำรวจพยาธิเฮลมินท์ และคุณภาพน้ำบริเวณเขื่อนภูมิพล. รายงานการวิจัย, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ประไพสิริ สิริกาญจน. 2526. พยาธิใบไม้ตามเมือกบนลำตัวปลานิล. รายงานการวิจัย, ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พิณทิพย์ แจ้งเจนกิจ. 2521. ชนิดของหนอนพยาธิ (helmints) ในทางเดินอาหารของปลาน้ำจืด ที่พบบริเวณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิรัช อยู่แสง. 2522. การสำรวจหาเมตาเซอคาเรียในปลาน้ำจืดในบางท้องที่ในจังหวัดเชียงใหม่. การค้นคว้าอิสระเชิง วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สุปราณี ชินบุตร. 2526. Digenetic trematodes ของปลาน้ำจืดบางชนิด ในแม่น้ำแม่กลองช่วงเหนือเขื่อนวชิราลงกรณ์ จังหวัดกาญจนบุรี. *วารสารการประมง*, 36(2): 207-213.

Beverley-Burton, M. 1962. Some trematodes from *Clarias* spp. in the Rhodesias, including *Allocreadium mazoensis* n. sp. and *Eumasenia bangweulensis* n. sp., and comments on the species of the genus *Orientocreadium* Tubangui, 1931. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 29(2): 103-115.

Boomker, J. and F.A. Puylaert. 1994. Eight new Afrotropical *Spinitectus* spp. (Nematoda : Cystidicolidae) from freshwater fishes with a key to the members of the genus in the region. *Onderst. J. V.* 61: 127–142.

Colley, F.C. and A.C. Olsen 1963. *Posthodiplostomum minimum* (Trematoda: Diplostomidae) in fishes of Lowr Otay Reservoir, San Diego County, California. *J. Parasitol.* 49(1): 148.

De, N.C. and S.P. Ghosh 1989. Larval and adult morphology of *Camallanus anabantis* Pearse, 1933 and *C. Kulasirii* (Yeh, 1960) (Nematoda: Camallanidae) from fresh water fishes, with notes on the validity of some related forms. *Syst. Paras.* 14: 227–236.

Karyakarte, P.P. 1967. *Acanthostomum (Atrophecaecum*) *alii* sp.n. (Trematoda: Acanthostomidae) from the snake, *Elaphe helena* in India. *J. Parasitol.* 53(3): 587-588.

Khan, A. and F.M. Bilqees. 1990. *Allocreadium kalrai* n. sp. trematoda Allocreadiidae from the fish *Channa striatus* Bloch of Kalri Lake Pakistan. *Pakistan J. Zool.* 22(4): 345-352.

Kliks, M. and T. Tantachamrun 1974. Heterophyid (Trematoda) parasites of cats in North Thailand, with notes on a human case found at necropsy. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 5: 547-555.

Moorthy, V.N. 1937. *Camallanus sweeti* n.sp., A new species of Camallanidae (Nematoda). J. Parasitol. 23: 302–306.

Moravec, F. 1968. Species of the genus *Rhabdochona* Railliet, 1916 (Nematoda: Rhabdochonidae) from fishes of Czechoslovakia. *Folia Parasitol.* 15: 29-40.

Moravec, F. and K. Nagasawa 1998. Helminth parasites of the rare endemic catfish, *Liobagrus reini* in Japan. *Folia Parasitol.* 45: 283–294.

Moravec, F. and T. Scholz 1991. Observations on some nematodes parasitic in freshwater fishes in Laos. *Folia Parasitol.* 38: 163–178.

Moravec, F. and O. Sey 1989. Some trematodes of freshwater fishes from north Vietnam with a list of recorded endohelminths by fish hosts. *Folia Parasitol.* 36: 243-262.

Namue, C., A. Rojanapaibul and C. Wongsawad. 1997. Occurrence of two heterophyid metacercariae Haplorchis and Haplorchoides in cyprinoid fish of some districts in Chiang Mai and Lumphun provinces. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 1998. 29(2): 401-405.

Overstreet, R.M. 1970. *Spinitectus beaveri* sp.n. (Nematoda: Spiruroidea) from the bone fish, *Albula vulpes* (Linnaeus), in Florida. *J. Parasitol.* 56(1): 128–130.

Ozaki, Y. 1925. On a new genus of fish trematodes, *Genarchopsis*, and a new species of *Asymphylodora*. Japanness *J. Zool.* 1: 101-108.

Peters, L.E. 1957. An analysis of the trematode genus *Allocreadium* Looss with the description of *Allocreadium neotenicum* sp. nov. from water beetles. *J. Parasitol.* 43: 136-142.

Pearse, A.S. 1933. Parasites of siamese fishes and crustaceans. *J. Siam. Soc. (Nat. Hist. Suppl.)* 9(2): 179–191.

Person, J.C. 1964. A revision of the subfamily Haplorchinae Loose, 1899 (Trematoda: Heterophyidae). *J. Parasitol.* 54: 601- 676.

Radomyos, P., P. Charoenlarp, B. Radomyos and A. Tungtrongchitr. 1990. Two human cases of *Stellanchasmus falcatus* (Trematoda: Heterophyidae) Infection in Northeastern Thailand. Japanness *J. Parasitol.* 39(1): 7-11.

Ratanasritong, S. and M.A. Kliks. 1972. Survey of the helminth parasite of fresh–water fish in Chiang Mai Province. *Bull. Chiang Mai Med. Tech.* 5(3): 185-200.

Sathyanarayana, M.C. and S. Venkatachalam. 1993. Survey of helminth parasites of important freshwater food fishes of Mannampandal area, Mayiladuturai, Tanjore district, Tamilnadu. *Indian J. Parasitol.* 17(2): 169–171.

Schell, S.C. 1970. How to know the trematodes. Iowa, W.M.C. Brown Company.

Sujjanun, A. and P. Thitasut. 1971. Studies on Metacercaria of *Opisthochis* spp. in Chiang Mai, *Thailand. Bull. Chiang Mai Med. Tech.* 4(3): 113-119.

Tantachamrun, T. and M. Kliks. 1978. Heterophyid infection in human ileum: report of three cases. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 9: 128-132.

Wongsawad, C., P. Wongsawad, S. Suwattanacoupt and M. Sukchotiratana. 1996. Some biological investigation of larval trematodes from Chiang Mai moat. 16th. Biennial Conference of the Asian Association for Biology Education. 2-7 December, 1996. Chiang Mai , Thailand.

Yammguti, S. 1958. Systema helminthum. Vol. I The digenea trematode of vertebrates. Part I & II. New York, Interscience Publishers Inc.

Yeh, L.S. On a collection of camallanid nematodes from fresh water fishes in CeylonW. J.Helminth,. 34 (1/1): 107-116.

# ความหลากหลายทางชีวภาพของหอยทากจิ๋วในประเทศไทย

**สมศักดิ์ ปัญหา[1], ปิโยรส ทองเกิด[1], จิรศักดิ์ สุจริต[1], ศักดิ์บวร ตุ้มปี่สุวรรณ[1], Diarmaid O'Foighil[2,3], John B. Burch[2,3,4], รุจิพร ประทีปะเสน[5], รองลาภ สุขมาสรวง[6], และสุรกฤษ ผลโคกสูง[7]**

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[2]Museum of Zoology, [3]Department of Biology, [4]School of Natural Resources, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109, U.S.A.

[5]ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[6]ส่วนวิจัยสัตว์ป่า กรมป่าไม้ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[7]ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

## Abstract: Terrestrial Microsnails Biodiversity in Thailand

The taxonomy of terrestrial microsnails from almost all limestone areas in Thailand was studied from 1996-1999. Two hundred and forty-eight species were reported, of which more than 90 are new to science. The habitats are various, from limestone walls to caves and leaf litter. The two dominant families are Vertiginidae and Diplommatinidae. In the whole southeast Asian region, Vertiginidae is dominant on the mainland while Diplommatinidae is dominant on islands such as Sumatra, Java and Borneo. Shell morphological study, and especially the SH/SW ratio, can be used to distinguish vertiginids from diplommatinids, except for *Boysidia tholus*. Radula and apertural dentition particularly in vertiginids, are excellent characteristics for classification of the two families. Therefore, a dichotomous key of apertural dentition was constructed. A preliminary study of phylogenetic analysis using genes COI and 16S rDNA has been started. The initial results look very promising for the analysis of snails in this region.

**Key words:** Vertiginidae, Diplommatinidae, terrestrial microsnails, biodiversity

## บทนำ

หอยทากจิ๋ว (microsnails) เป็นหอยฝาเดียว (gastropods) ที่มีขนาดเล็กมาก เปลือกมีความสูงตั้งแต่ต่ำกว่า 1 มิลลิเมตร ถึง 5 มิลลิเมตร มักพบอยู่ในบริเวณแนวเขาหินปูนทั่วโลก ประเทศไทยมีแนวเขาหินปูนกำเนิดขึ้นเมื่อราว ๆ 30 ล้านปีก่อน ในยุคเทอเทียรี (Tertiary) ตั้งแต่พื้นที่ยังไม่มีอาณาเขตชัดเจนอย่างในปัจจุบัน (ภาพที่ 1) แนวหินปูนเป็นแนวยาวร่วมกับกุ้ยหลินของจีน ซาราวัก และซาบาห์บนเกาะบอร์เนียว มีความยาวทั้งสิ้นราว 5,000 กิโลเมตร (Henley, 1994; Whitten et al., 2000) แนวหินปูนร่วมที่สำคัญของไทยคือ สุราษฎร์ธานี พังงา กระบี่ และตรัง นอกจากนั้นยังมีที่แนวตะวันตกร่วมกับพม่า ตะวันออกร่วมกับลาว เขมร และเวียดนาม จากแนวเขาขนาดใหญ่ดังกล่าวทำให้เกิดความหลากหลายของพืชพันธุ์และสัตว์นานาชนิดที่มีความจำเพาะรวมทั้งหอยทากจิ๋ว ซึ่งพบได้ในหลายบริเวณ เช่น ผนังหินปูน ถ้ำ เศษซากใบไม้ กิ่งไม้ทับถม

Henry Pilsbry เริ่มศึกษาหอยทากจิ๋วเป็นบุคคลแรก ตั้งแต่ ค.ศ. 1893-1894 โดยรวบรวมหอยทั่วทุกภูมิภาคของโลก และจัดทำกุญแจสำหรับจำแนกในเบื้องต้นได้อย่างเหมาะสม โดยเฉพาะหอยทากจิ๋ววงศ์ Pupillidae แล้วตีพิมพ์ผลงานใน Manual Conchology ของ The Chonchological Department Academy of Natural Sciences of Philadelphia ในปี ค.ศ. 1916-1918 จนกลายเป็นไบเบิลทางสังขวิทยา

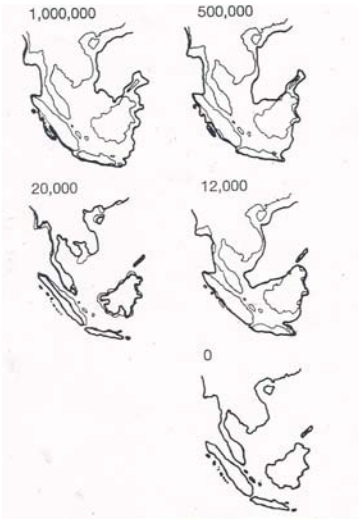
Benthem Jutting เป็นผู้บุกเบิกการสำรวจทรัพยากรหอยในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยได้เก็บตัวอย่างในบริเวณประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซีย ปี ค.ศ.1925 พบหอยทากจิ๋วมากกว่า 60 สปีชีส์ ซึ่งได้กลายเป็นพื้นฐานในการศึกษาต่อมาอีกมากมายจนพบหอยทากจิ๋วมากกว่า 100 สปีชีส์ (Zilch, 1961, 1984; Berry, 1963; Vermeulen, 1991, 1993, 1994)

ส่วนในประเทศไทยนั้นแทบจะไม่มีผู้ใดทำการวิจัยมาก่อน มีเพียงรายงานตัวอย่างที่มีการเก็บรวบรวมมาก่อนหน้านี้เป็นเวลานาน หลักฐานที่ชัดเจนคือ ผลการวิจัยของ Thompson และ Lee ในปี ค.ศ. 1988 ได้รายงานหอยทากจิ๋วชนิดใหม่ *Hypselostoma holimanae* ที่กาญจนบุรี

โครงการวิจัย "ความหลากหลายทางชีวภาพของหอยทากจิ๋วในประเทศไทย" จึงได้เริ่มดำเนินการตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2539 จนถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2543 ภายใต้การสนับสนุนของโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย รหัสโครงการ BRT 139035 ได้เข้าทำการเก็บตัวอย่างหอยในแนวเขาหินปูนทั่วประเทศไทย

และบางส่วนของประเทศมาเลเซียและเวียดนาม และได้จำแนกชนิดหอยทากจิ๋วของไทยประมาณ 248 สปีชีส์ เป็นสปีชีส์ใหม่มากกว่า 90 สปีชีส์ มีผลงานวิชาการตีพิมพ์ในวารสารวิจัยระดับนานาชาติมากกว่า 20 บทความ และได้ตีพิมพ์เป็นเอกสารทางวิชาการในรูปแบบ Monograph ของหอยทากจิ๋วในประเทศไทย เรื่อง "Terrestrial Microsnails Biodiversity in Thailand" ในวารสาร Malacological Review ฉบับ Supplement Number 9 ปี ค.ศ. 2001 เนื้อหาของบทความเป็นเรื่องเกี่ยวกับงานอนุกรมวิธานหอยทากจิ๋วของไทยทั้งหมด

บทความนี้เป็นการนำความรู้จากผลวิจัยอนุกรมวิธานเบื้องต้นที่บันทึกไว้ใน Monograph มาศึกษาวิจัยในเชิงลึก เพื่อประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในอนาคต การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา (morphometric analysis) ตลอดจนการเริ่มต้นศึกษาทางชีวโมเลกุลเพื่อวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ (phylogenetic analysis) ทำให้เริ่มมองเห็นวิวัฒนาการของหอยทากจิ๋วที่สำคัญแต่ละกลุ่ม โดยเฉพาะวงศ์หอยปากแตร Family Vertiginidae อันจะเป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์แนวหินปูนของโลกต่อไป



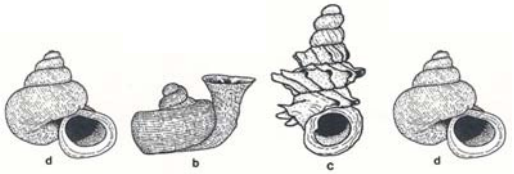
ภาพที่ 1. อาณาเขตของแผ่นดินเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในอดีต ตั้งแต่ 1 ล้านปีที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน (เส้นหนาแสดงอาณาเขตในอดีต เส้นจางแสดงอาณาเขตปัจจุบัน (Whitten et al., 2000)

ปัจจุบันคณะนักวิจัยหอยทากจิ๋วแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ร่วมมือกับนักวิจัยจาก University Malaysia Sabah, Kotakinabalu จัดทำเครือข่ายเกี่ยวกับการอนุรักษ์แนวเขาหินปูนของเอเชีย-ตะวันออกเฉียงใต้ ภายใต้หัวข้อ "The Evolution and Conservation of Biodiversity of Limestone Areas" โดยประชุมร่วมกันครั้งแรกเมื่อวันที่ 12 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2544 ซึ่งมีแนวทางที่จะทำวิจัยร่วมกันในอนาคต นอกจากนั้น ยังร่วมกับนักวิจัยจาก University Montpellier ประเทศฝรั่งเศส ในโครงการ Thai-French Project ทำวิจัยภายใต้หัวข้อ "Biodiversity and Palaeoenvironments of Caenozoic Faunas and Floras of Thailand" ในราวต้นปี พ.ศ. 2545

## หอยทากจิ๋ว

Franzen และ Leonard ในปี ค.ศ. 1947 รายงานว่า หอยทากจิ๋วน่าจะมีกำเนิดมาตั้งแต่ยุค Pliocene แล้วมีวิวัฒนาการที่หลากหลาย (adaptive radiation) โดยเฉพาะในวงศ์หอยทากจิ๋วปากแตร Family Pupillidae Turton, 1831 ขณะนี้คณะผู้วิจัยกำลังศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ โดยมีสมมติฐานว่าทั้งสองวงศ์ในแต่ละซีกโลกอาจมีลักษณะที่เป็น convergence เนื่องจากแผ่นดินยุโรป สหรัฐอเมริกา และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จัดว่ามีต้นกำเนิดที่ต่างกัน อย่างไรก็ตาม ทวีปออสเตรเลียเป็นพื้นที่ที่มีการกระจายทั้งวงศ์ Pupillidae และ Vertiginidae แม้กระทั่งญี่ปุ่นและหลายบริเวณของเอเชียก็พบหอยทั้งสองวงศ์ มีความเป็นไปได้ว่า Pupillidae กำเนิดมาก่อนแล้วกระจายไปทั่วโลก มีวิวัฒนาการไปตามบริเวณต่างๆ ต่อมามีการแยกตัวทางภูมิศาสตร์ (geographic isolation) จนเกิด speciation ในที่สุด Vertiginidae นั้น พบเฉพาะแถบเอเชียตะวันออก (จีน เกาหลี และญี่ปุ่น) และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เท่านั้น ปัจจุบันยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับฟอสซิลของ Vertiginidae

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกโดยทั่วไปพบว่าหอยในวงศ์ Pupillidae Turton, 1831 มีรูปร่างพื้นฐานเป็นทรงกระบอก (cylindrical) ปากเปลือก (aperture) ไม่บานแผ่ออก วงศ์ Vertiginidae Fitzinger, 1833 รูปร่างเปลือกเป็นทรงกรวย (conic) ปากเปลือกจะบานออกมักเรียกว่า หอยจิ๋วปากแตร (ภาพที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบ Pupillidae ของสหรัฐอเมริกากับของประเทศไทยจะพบความคล้ายคลึงกันของสัณฐานวิทยาเปลือกโดยทั่วไป (similarity) แต่จะแตกต่างโดยสิ้นเชิงจาก Vertiginidae (ภาพที่ 3) ลักษณะที่เหมือนกันมากคือ ลักษณะภายในปากเปลือก ฟันปากเปลือก (apertural dentition) เป็นลักษณะสำคัญเฉพาะตัวของหอยในวงศ์นี้ (ภาพที่ 4) มีรูปแบบที่ชัดเจน นักวิจัยหลายคนเชื่อว่าฟัน



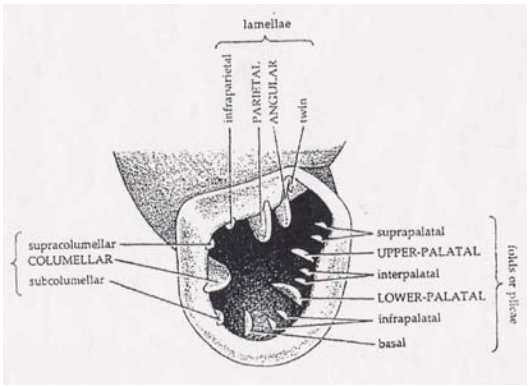
ภาพที่ 2. ลักษณะเด่นโดยทั่วไปของหอยทากจิ๋วปากแตร เมื่อเทียบกับหอยในกลุ่มอื่นๆ (a) หอยจิ๋วปากแตรเชียงใหม่ *Paraboysidia chiangmaiensis* (b) หอยจิ๋วปากแตรเอราวัณ *Gyliotrachela erawan* (c) หอยกระสวยนิมานันท์ *Diplommatina nimanandhi* (d) หอยไต่ผา *Alycaeus anapetes*

ปากเปลือกคือกุญแจที่สำคัญของการศึกษาวิวัฒนาการ และความสัมพันธ์ของหอยทากจิ๋วกับสภาพแวดล้อม ขณะนี้มีโครงการวิจัยหลายแห่งกำลังทำการวิจัยในหลายแง่มุมในเชิงความสัมพันธ์ของฟันปากเปลือกกับลักษณะอื่น ๆ ในสภาพแวดล้อมเขาหินปูน

ภาพที่ 3. ลักษณะทั่วไปของหอยทากจิ๋วปากแตรวงศ์ Vertiginidae (a) *Gastrocopta pisiti* (b) *Hypselostoma khaowongensis* ของไทย (c) วงศ์ Pupillidae ชนิด *Vertigo* sp. ของอเมริกา

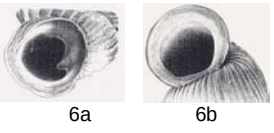
หอยกระสวย Family Diplommatinidae จัดเป็นกลุ่มเด่นอีกกลุ่มหนึ่งในบรรดาหอยทากจิ๋วทั่วโลก พบการกระจายทั่วโลก ตั้งแต่ยุโรป ตะวันออกกลาง เอเชียตะวันออก เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ หมู่เกาะแปซิฟิค ออสเตรเลีย อเมริกากลาง และอเมริกาใต้ กำเนิดมาในราวยุคครีเตเซียสถึงไมโอซีน (Cretaceous to Miocene) (Solem, 1981) จากรายงานวิจัยหลาย ๆ เรื่อง พบว่า หอยกระสวยที่อยู่บนแผ่นดินใหญ่หลายๆ แห่งจะอยู่ร่วมกับหอยจิ๋วปากแตร ไม่เป็นกลุ่มเด่นที่ชัดเจน ในขณะที่พื้นที่บนเกาะหลายแห่ง เช่น บอร์เนียว หอยกระสวยจัดเป็นกลุ่มเด่นที่สุด แทบจะไม่พบหอยจิ๋วปากแตรเลย หอยสกุล *Diplommatina* เป็นสกุลหลักของวงศ์นี้

บนเกาะบอร์เนียวมีการพัฒนาของสกุล *Opisthostoma* จนเป็นสกุลเด่นและจำเพาะ (endemic) ของภูมิภาคแห่งนี้ (ภาพที่ 5) ลักษณะทางสัณฐานของเปลือกโดยทั่วไปมีรูปทรงกระสวย (fusiform) เนื่องจากเป็นกลุ่มหอยที่มีฝาปิดเปลือก (operculum) ใน Subclass Prosobranchia ทำให้ไม่มีฟันปากเปลือก มีเพียงลักษณะแง่ยื่นคอลัมเมลลา (columellaris) ที่ใช้ในการจัดจำแนก (ภาพที่ 6) นอกจากนั้นสกุล *Opisthostoma* มีรูปร่างเปลือกใกล้เคียงกับ Vertiginidae มากกว่า วงศ์ Diplommatinidae จัดเป็น "Land operculate snails" Subclass Prosobranchia ส่วนวงศ์ Vertiginidae จัดเป็น "Land pulmonate snails" Subclass Pulmonata หอยทากบกอย่างสมบูรณ์




ภาพที่ 4. ลักษณะทั่วไปของฟันปากเปลือก (apertural dentition) ที่มีชื่อและตำแหน่งชัดเจน (Franzen and Leonard, 1947)

ภาพที่ 5. ลักษณะทั่วไปของหอยทากจิ๋วสกุล
(a) *Diplommatina*
(b) *Opiostoma*



6a 6b

ภาพที่ 6. ลักษณะปากเปลือกของหอยสกุล *Diplommatina*
(a) *Diplommatina gigas*
(b) *Diplommatina suratensis*

## อนุกรมวิธาน

การศึกษาหอยทากจิ๋วของไทยมีหลักฐานเป็นรายงานฉบับแรก โดย Pfeiffer (1870-1876) ซึ่งรายงานการพบหอยทากจิ๋วชนิด *Alycaeus distortus* ของประเทศสยาม ต่อมา Mollendorff ในปี ค.ศ. 1894 เริ่มศึกษาหอยทากจิ๋วอย่างจริงจัง โดยเก็บตัวอย่างจากเกาะสมุย สรุปผลเป็นหอยชนิดใหม่ถึง 8 ชนิด ทั้ง Diplommatinidae และ Vertiginidae Gude (1903) ก็รายงานหอยทากของเอเชีย รวมทั้งหอยทากจิ๋วสกุล *Kaliella* ของไทยด้วย ปี ค.ศ. 1921 เขาได้ตีพิมพ์หอยทากมีฝาปิดเปลือก (land operculate snails) ของศรีลังกาและพม่า พบว่าหอยกระสวยสกุล *Diplommatina* มีความใกล้เคียงกับสปีชีส์ที่พบในประเทศไทย Dautzenberg and Fischer (1905) รายงานหอยทากในยูนนาน เวียดนาม และเขมร พบว่าหอยทากจิ๋วสกุล *Opisthostoma* และ *Diplommatina* มีความใกล้เคียงกับสปีชีส์ในประเทศไทย Pilsbry (1916-1918) ได้รวบรวมรายชื่อหอยทากจิ๋วทั่วโลก รวมทั้งสปีชีส์ที่พบในประเทศไทย ตลอดจนข้อมูลพื้นฐานของหอยในวงศ์ Pupillidae ซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญในการศึกษาอนุกรมวิธานของหอยทากจิ๋วในเวลาต่อมา หลายปีต่อมา Zilch (1953) รายงานหอยทากวงศ์ Cyclophoridae, Diplommatinidae ของฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น บอร์เนียว เวียดนาม และมาเลเซีย และ *Diplommatina* (*Sinica*) *samuiana* ของไทย ปี ค.ศ. 1961 เขาได้รายงานเพิ่มเติมในวงศ์ Streptaxidae ถึง 111 สปีชีส์ เป็นหอยทากจิ๋วถึง 62 สปีชีส์ ในจำนวนนี้ 7 สปีชีส์ ถูกค้นพบในประเทศไทย

Berry (1963) รายงานหอยทากจิ๋วของมาเลเซียที่มีชายแดนติดกับภาคใต้ของไทย พบหลายสปีชีส์ที่มีความสัมพันธ์กับสปีชีส์ในประเทศไทย โดยเฉพาะในสกุล *Boysidia*, *Gyliotrachela* และ *Diplommatina* Zilch (1984) รายงานหอยทากจิ๋ว 29 สปีชีส์ของฟิลิปปินส์ จีน เวียดนาม มาเลเซีย และอินโดนีเซีย ในจำนวนนี้มีหอยสกุล *Gyliotrachela* ของไทย 2 สปีชีส์

การวิจัยหอยทากจิ๋วในประเทศไทย เริ่มจากงานของ Thompson และ Lee ปี ค.ศ. 1988 รายงานหอยจิ๋วปากแตรชนิดใหม่ *Hypselostama holimanae* จากจังหวัดกาญจนบุรี ต่อมา Thompson and Upatham (1997) รายงานหอยจิ๋วปากแตรชนิดใหม่ของไทย 8 ชนิด และตั้งชื่อสกุลหอยใหม่คือ *Acinolaemus*

ภาพที่ 7. แนวหินปูนที่ทำการเก็บตัวอย่างหอยทากจิ๋วทั้งในและต่างประเทศ (L=Luang Prabang, W=Wangwiang, K=Kammuan, T=Tum Dow, H=Huu Lien, C=Cuc Phuong)

คณะผู้วิจัยได้เริ่มทำการศึกษาในแนวหินปูนทั่วประเทศไทย (ภาพที่ 7) ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2539 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2542 พบหอยทากจิ๋วของไทย โดยเฉพาะที่เป็นชนิดใหม่เป็นจำนวนมาก ชนิดแรกที่ตีพิมพ์ผลงานคือ *Opisthostoma klongsangensis* ในปี ค.ศ. 1996 จากนั้น จำนวนบทความก็เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงปัจจุบัน ดังนี้ Panha, 1996; Panha and Burch, 1996; Panha, 1997 a, b; Panha and Burch, 1997; Panha and Burch, 1998; Panha and Burch, 1999 a, b; Panha and Burch, 2000; Burch and Panha, 2000; Panha and Pattamakanthin, 2001; Panha and Burch, 2001a บทความที่ตีพิมพ์แล้วมีจำนวน 13 เรื่อง เป็นรายงานการค้นพบชนิดใหม่ถึง 34 สปีชีส์ นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยยังได้ตีพิมพ์งานวิจัยที่เป็นการรวบรวมสปีชีส์หอยทากจิ๋วที่รายงานมาแล้วทั้งหมด และเพิ่มชนิดใหม่ที่พบอีกราว 60 สปีชีส์ ซึ่งทำให้หอยทากจิ๋วของไทยที่เป็นชนิดใหม่ทั้งสิ้นมากกว่า 90 สปีชีส์ (new species) (Panha and Burch, 2001b)

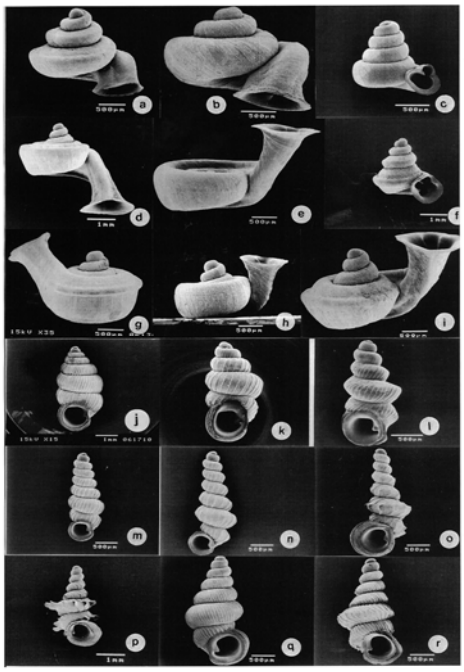
รายการสปีชีส์ (species list) เฉพาะหอยทากจิ๋วปากแตร (Family Vertiginidae) และหอยกระสวย (Family Diplommatinidae) ที่พบในประเทศไทย (ภาพที่ 8)

**Family Vertiginidae**

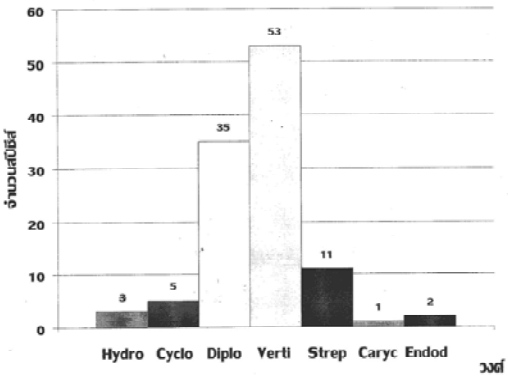
*Nesopupa malayana samuiana* (Mollendorff)
*Costigo notos* Panha and Burch
*Gastrocopta pisiti* Panha and Burch
*Hypselostoma holimanae* Thompson and Lee
*H. chedi* Panha
*H. cucumensis* Panha
*H. erawan* Panha and Prateepasen
*H. utaithaniensis* Panha
*H. surakiti* Panha and Burch
*H. theerakupti* Panha and Burch
*Boysidia chiangmaiensis* Panha and Burch
*B. tholus* Panha
*B. tamphathai* Panha and Burch
*B. angthongense* Panha and Burch
*B. pangmapaensis* Panha
*B. huaykhakang* Panha
*B. nabhitabhatai* Panha and Burch
*Gyliotrachela khaochongensis* Panha
*G. adela* Thompson and Upatham
*G. burchi* Panha
G. saraburiensis Panha
*G. loei* Panha and Prateepasen
*G. srakeoensis* Panha
*G. tridentatus* Panha
*G. hyptiotes* Panha and Burch
*G. chatnareeae* Panha and Burch
*Montapiculus proboscidea* Panha and Burch
*Diogmostoma wangviangensis* Panha and Burch
*D. agina* Panha and Burch
*Aulacospira smaesarnensis* Panha and Burch
*A. lampangensis* Panha and Burch
*Krobylos danchangensis* Panha and Burch
*K. pomjuk* Panha and Burch
*K. maehongsonensis* Panha and Burch
*K. visuti* Panha and Burch
*Systenostoma muaklekensis* Panha
*S. edentatus* Panha
*S. phamon* Panha and Burch
*S. phupaman* Panha and Burch
*S. tamlod* Panha
*S. rayongensis* Panha
*S. tarutao* Panha and Burch
*S. concava* Thompson and Upatham
*S. elevata* Thompson and Upatham
*Acinolaemus ptychochilus* Thompson and Upatham
*A. sphinctinion* Thompson and Upatham
*A. rhamphodon* Thompson and Upatham
*A. stenopus* Thompson and Upatham
*A. colpodon Thompson* and Upatham
*Antroapiculus pendulus* Panha and Burch

**Family Diplommatinidae**

*Diplommatina prakayangensis* Panha
*D. jirasaki* Panha et al.
*D. krabiensis* Panha and Burch
*D. tadanensis* Panha and Burch
*D. hidakai* Panha
*D. pongrati* Panha et al.
*D. akron* Panha and Burch
*D. wannasiriae* Panha and Burch
*D. suratensis* Panha and Burch
*D. phaibuli* Panha and Burch
*D. diagonos* Panha and Burch
*D. maesaiensis* Panha and Burch
*D. gigas* Panha and Burch
*D. nimanandhi* Panha et al.
*D. sakbovoni* Panha and Burch
*D. umpangensis* Panha
*D. khaochamaoensis* Panha et al.
*D. loei* Panha and Burch
*D. doichiangdao* Panha and Burch
*D. phukiew* Panha and Burch
*D. payaoensis* Panha and Burch
*D. samuiana* Mollendorff
*D. sraingamensis* Panha and Burch
*D. nernmapangensis* Panha and Burch
*D. piyorosae* Panha and Burch
*D. kewlom* Panha and Burch
*D. pisanulokensis* Panha and Burch
*D. naiyanetri* Panha
*D. chiangraiensis* Panha and Burch
*D. aequalis* Panha and Burch
*D. amornpani* Panha and Burch
*Opisthostoma klongsangensis* Panha
*O. beeartee* Panha and Burch



ภาพที่ 8. ตัวอย่างหอยทากจิ๋ว ทั้งวงศ์หอยทากจิ๋วปากแตร (Vertiginidae) และวงศ์หอยกระสวย (Diplommatinidae) (a) *Aulacospira smaesarnensis* (b) *A. lampangensis* (c) *Diogmostoma wangviangensis* (d) *Gyliotrachela srakeoensis* (e) *G. tridentatus* (f) *G. danchangensis* (g) *Hypselostoma cucumensis* (h) *G. erawan* (i) *G. surakitti* (j) *Diplommatina chiangmaiensis* (k) *D. tadanensis* (l) *D. krabiensis* (m) *H. hidakai* (n) *D. pongrati* (o) *D. jirasaki* (p) *D. nimanandhi* (q) *D. sakbovoni* (r) *D. umpangensis*)




ภาพที่ 9. จำนวนสปีชีส์ของหอยทากจิ๋วในแต่ละวงศ์ของไทยที่พบจากการเก็บตัวอย่างทั่วประเทศ

Panha and Burch (2001b) สรุปหอยทากจิ๋วที่พบแต่ละวงศ์ (Family) ดังนี้ Hydrocenidae 3 สปีชีส์, Cyclophoridae 5 สปีชีส์, Diplommatinidae 35 สปีชีส์, Vertiginidae 53 สปีชีส์, Streptaxidae 11 สปีชีส์, Carychiidae 1 สปีชีส์ และ Endodontiade 2 สปีชีส์

เมื่อนำมาแสดงเป็นกราฟแท่งจะเห็นชัดเจนว่า (ภาพที่ 9) หอยทากจิ๋วปากแตร (Vertiginidae) และหอยกระสวย (Diplommatinidae) เป็นกลุ่มเด่นในแนวเขาหินปูนของประเทศไทย นอกจากนี้ ยังมีการรายงานข้อมูลทางด้านนิเวศวิทยาเบื้องต้นจากการสำรวจหอยทากจิ๋วของไทย ในปี พ.ศ. 2542 (สมศักดิ์ และคณะ, 2542) โดยรายงานค่า species richness ของหอยทั่วประเทศไทยต่อค่า moisture gradient ค่า herbaceous vegetation diversity และค่าชั้นความสูงอีกด้วย

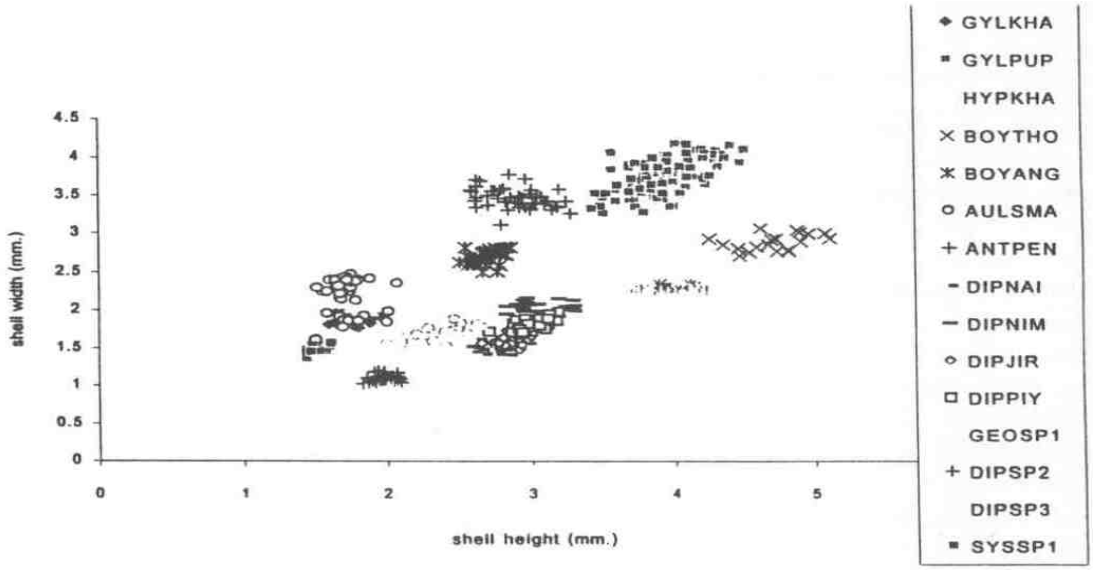
## การแพร่กระจาย

จากการวิเคราะห์ข้อมูลของตัวอย่างที่ได้มาทั้งหมดพบว่า หอยกระสวยกระจายในถิ่นที่อยู่อาศัยที่ชัดเจน ในบริเวณที่จำกัดในแนวหินปูนในภูมิภาคจำเพาะของแต่ละสปีชีส์ *เช่น Diplommatina suratensis* พบกระจายในแนวหินปูนแถบจังหวัดสุราษฎร์ธานี ตั้งแต่อุทยานแห่งชาติเขาศกไปจนถึงเขตอำเภอพุนพิน *D. naiyanetri* กระจายอยู่ในบริเวณแนวหินปูนเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาช่อง จังหวัดตรัง เรื่อยไปทางตะวันออกถึงอุทยานแห่งชาติเขาปู่เขาย่า จังหวัดพัทลุง ในขณะที่ *D. prakayangensis* จะพบเฉพาะแถบคอคอดกระ จังหวัดระนองเท่านั้น หอยกระสวยยังเป็นกลุ่มหอยที่มีฝาปิด (land operculate snail) เช่นเดียวกับ

หอยน้ำจืด แม้จะขึ้นมาเป็นหอยบกแต่ยังต้องการความชื้นอยู่มาก ถิ่นที่อยู่อาศัยจึงเป็นซอกหิน โคนต้นมอสส์ รากพืช ทำให้หอยกระสวยมีถิ่นที่อยู่อาศัยระดับที่มั่นคงแน่นอน ไม่ค่อยกระจายไปที่ใดมากนัก ไม่ปะปนกันโดยง่าย การอยู่แยกกันนานในแนวหินปูนที่ต่างกันอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสปีชีส์ที่แยกจำเพาะออกไป (speciation) ในขณะที่หอยจิ๋วปากแตรมีการกระจายจำเพาะถิ่นเช่นเดียวกับหอยกระสวย แต่อาจมีระยะทางที่ไกลกว่า เช่น *Montapiculus proboscidea* พบการกระจายในแนวหินปูนแถบจังหวัดสุพรรณบุรี อุทัยธานี และนครสวรรค์ *Aulacospira smaesarnensis* พบที่แถบจังหวัดชลบุรี แต่มีบางสปีชีส์ เช่น *Hypselostoma khaowongensis* พบกระจายอยู่ทั่วประเทศ หอยจิ๋วปากแตรเป็นหอยทากบกที่สมบูรณ์ (land pulmonate snail) มักอาศัยในแนวผนังหินปูน เกาะอยู่อย่างหลวม ๆ และเดินไปมาบ่อยกว่าหอยกระสวย โอกาสที่จะถูกพัดพาโดยลม น้ำ ไปในที่ไกล ๆ เพื่อแลกเปลี่ยนยีนกับประชากรบริเวณอื่นได้ จึงทำให้เห็นลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกที่หลากหลายเป็นข้อสังเกตในเบื้องต้น ในขณะที่หอยกระสวยมักพบลักษณะที่หลากหลายน้อยกว่า การวิเคราะห์ในระดับชีวโมเลกุลอาจจะไขปัญหาวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในแนวเขาหินปูนได้

## การวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเปลือก (Shell Morphometric Analysis)

เมื่อนำค่าความสูงของเปลือก (shell height, SH) กับความกว้างหรือเส้นผ่านศูนย์กลาง (shell width, SW) ของหอย 15 สปีชีส์ (8 Vertiginidae, 6 Diplommatinidae และ 1 Cyclophoridae) มาแสดงด้วยกราฟความสัมพันธ์ของสองค่า (ภาพที่ 10)




ภาพที่ 10. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสูงของเปลือก (SH) และความกว้างหรือเส้นผ่านศูนย์กลางของเปลือก (SW) ในหอยทากจิ๋ววงศ์ Vertiginidae และ Diplommatinidae (GYLKHA, *Gyliotrachela khaochongensis*; GYLPUP, *G. phupaman*; HYPKHA, *Hypselostoma khaowongensis*; BOYTHO, *Boysidia tholus*; BOYANG, *B. angthongense;* AULSMA, *Aulacospira smaesarnensis*; ANTPEN, *Antroapiculus pendulus*; DIPNAI, *Diplommatina naiyanetri*; DIPNIM, *D. nimanandhi*; DIPJIR, *D. jirasaki*; DIPPIY, *D. piyorosae*; DIPSP2, *Diplommatina* sp. 2; DIPSP3, *Diplommatina* sp. 3; GEOSP1, *Georissa* sp. 1; SYSSP1, *Systenostoma* sp. 1)

พบว่า สามารถจำแนกหอยทากจิ๋วมีฝาปิดเปลือก (land operculate microsnails) ออกจากหอยทากจิ๋วปากแตร (vertiginid microsnails) โดยที่กลุ่มหอยทากจิ๋วปากแตรมีเส้นผ่านศูนย์กลางของเปลือกสูงกว่าความสูงของเปลือก ขณะที่กลุ่มหอยทากจิ๋วมีฝาปิดเปลือกมีความสูงของเปลือกสูงกว่าเส้นผ่านศูนย์กลาง ยกเว้นชนิด *Boysidia tholus* ซึ่งเป็นหอยทากจิ๋วปากแตรที่มีความคล้ายคลึงกับกลุ่มหอยที่มีฝาปิดเปลือกในเชิงของความสูงของเปลือก แต่ลักษณะของการไม่มีฝาปิดเปลือกเป็นลักษณะของหอยมีปอด (pulmonate) และลักษณะฟันปากเปลือก (apertural dentition) แสดงถึงลักษณะของหอยทากจิ๋วปากแตร หอยทากจิ๋วปากแตรชนิด *Gyliotrachela phupaman* และ *Monapiculus proboscidea* นั้นแยกตัวออกจากกลุ่มอื่นอย่างเด่นชัด อาจจะเป็นเพราะรูปร่างโดยทั่วไปของเปลือกแตกต่างจากสปีชีส์อื่นอย่างมาโดยเฉพาะ *M. proboscidea* นั้น มีลักษณะของเปลือกที่ยังไม่พบที่ใดมาก่อน เพิ่งจะมีรายงานเป็นสกุลใหม่ โดยคณะผู้วิจัยในปี ค.ศ. 2001 นี้เอง (ภาพที่ 11) ในสกุล

ภาพที่ 11. ลักษณะรูปร่างโดยทั่วไปของหอยจิ๋วปากแตงวงช้าง *Monapiculus proboscidea*

หอยกระสวย *Diplommatina* นั้นมักแสดงการเกาะกลุ่มของค่า SH/SW ค่อนข้างชัดเจนกว่า เนื่องจากเส้นผ่านศูนย์กลางของเปลือกเป็นค่าที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักในสกุลนี้ มีเพียงค่าความสูงของเปลือกที่มีความผันแปรอยู่บ้าง ค่า SW/SH ที่วิเคราะห์ด้วย Regression Analysis เมื่อดูจากตารางที่ 1 จะพบว่าค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นที่มีค่าสูงสุดคือ หอยทากจิ๋วปากแตรชนิด *Hypselostoma khaowongensis* ที่ค่า SW=0.517SH+1.515, $R^2$=0.441 p value มีค่าเท่ากับ 0 หอยทากจิ๋วชนิดนี้มีมีขอบข่ายการกระจายกว้างกว่าทุกสปีชีส์ที่พบทั้งหมด เป็นสปีชีส์ที่น่าจะได้รับการศึกษามากที่สุดในขณะนี้ ส่วนกลุ่มหอยกระสวยสกุล *Diplommatina* นั้น ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของ SW/SH มีค่าต่ำกว่าหอยทากจิ๋วปากแตรมาก หอยอาจมีการเจริญไปในทางสูง (SH) มากกว่าการเจริญทางด้านข้างอย่างมาก ตัวอย่าง *Diplommatina nimanandhi* มีค่า SW=-1.48SH+2.06, $R^2$=0.001 p value มีค่าเท่ากับ 0.891 เมื่อนำค่า SW/SH มาวิเคราะห์ด้วย ANOVA (Duncan multiple range test) สามารถแบ่งกลุ่มของหอยวงศ์ Vertiginidae และ Diplommatinidae ออกจากกันได้อย่างชัดเจน โดยมีหอยวงศ์ Cyclophoridae สกุล *Georissa* sp. ถูกจำแนกไว้ตรงกลางระหว่างสองวงศ์แรกพอดี (ตารางที่ 2) ค่าการวิเคราะห์ดังกล่าวยังอาจนำมาประกอบเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาวิวัฒนาการของแต่ละกลุ่ม กลุ่มหอยทากจิ๋วปากแตร (Vertiginidae) มีความผันแปรของลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกมากกว่ากลุ่มอื่น ทำให้มองเห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างมากสำหรับกลุ่มนี้ในการครอบครองถิ่นที่อยู่อาศัยย่อยที่หลากหลายเช่นเดียวกัน ดังนั้นข้อมูลทางชีวโมเลกุลก็น่าจะมีความหลากหลายที่น่าวิเคราะห์ต่อไปอย่างยิ่ง

ตารางที่ 1. Equation, R square and p value of SW:SH in 15 micro-snails species

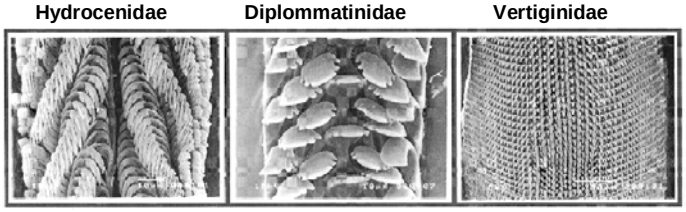
| Species | Equation and R square SW:SH | p |
|---|---|---|
| 1. *Gyliotrachela khaochongensis* | SW = 0.341SH + 1.124 $R^2$ = 0.096 | 0.016 |
| 2. *Gyliotrachela puphaman* | SW = 0.650SH + 1.492 $R^2$ = 0.371 | 0.00 |
| 3. *Hypselostoma khaowongensis* | SW = 0.517SH + 1.515 $R^2$ = 0.441 | 0.00 |
| 4. *Boysidia tholus* | SW = 0.186SH + 2.014 $R^2$ = 0.174 | 0.075 |
| 5. *Boysidia angtongensis* | SW = 0.359SH + 1.725 $R^2$ = 0.141 | 0.041 |
| 6. *Aulacospira smaesarnensis* | SW = -0.244SH + 4.164 $R^2$ = 0.002 | 0.791 |
| 7. *Antroapiculus pendulua* | SW = -7.58SH + 2.345 $R^2$ = 0.123 | 0.018 |
| 8. *Diplommatina naiyanetri* | SW = 6.055SH + 1.362 $R^2$ = 0.008 | 0.645 |
| 9. *Diplommatina nimanandhi* | SW = -1.48SH + 2.06 $R^2$ = 0.001 | 0.891 |
| 10. *Diplommatina jirasaki* | SW = 0.376SH + 0.532 $R^2$ = 0.238 | 0.029 |
| 11. *Diplommatina piyorosae* | SW = 0.409SH + 0.586 $R^2$ = 0.342 | 0.001 |
| 12. *Georissa* sp. | SW = 0.369SH + 0.799 $R^2$ = 0.339 | 0.001 |
| 13. *Diplommatina* sp. (No. 2) | SW = 0.369SH + 0.799 $R^2$ = 0.023 | 0.428 |
| 14. *Diplommatina* sp. (No. 3) | SW = 0.369SH + 0.799 $R^2$ = 0.045 | 0.371 |
| 15. *Systenostoma* sp. (No. 1) | SW = 0.369SH + 0.799 $R^2$ = 0.274 | 0.045 |

ตารางที่ 2. ANOVA Analysis (Duncan multiple range test) of SW/SH in 15 micro-snails species

| Species | N | Mean | Group |
|---|---|---|---|
| *Diplommatina* sp. (No. 2) | 30 | 0.5538 | 1 |
| *Diplommatina naiyanetri* | 30 | 0.5560 | |
| *Diplommatina jirasaki* | 20 | 0.5620 | 1,2 |
| *Diplommatina* sp. (No. 3) | 20 | 0.5685 | |
| *Diplommatina piyorosae* | 30 | 0.6052 | 2 |
| *Diplommatina nimanandhi* | 30 | 0.6597 | 3 |
| *Georissa* sp. | 30 | 0.7091 | 4 |
| *Gyliotrachela puphaman* | 100 | 0.9571 | 5 |
| *Systenostoma* sp. (No. 1) | 15 | 0.9723 | |
| *Gyliotrachela khaochongensis* | 60 | 1.0793 | 6 |
| *Hypselostoma khaowongensis* | 43 | 1.2351 | 7 |
| *Aulacospira smaesarnensis* | 46 | 1.7098 | 8 |
| *Boysidia tholus* | 19 | 1.8774 | 9 |
| Boysidia angtongensis | 30 | 2.3243 | 10 |
| Antroapiculus pendulua | 45 | 1.9011 | 11 |

## แรดูลา (Radula)

จากการสกัดแรดูลาหรือฟันของหอยออกมาศึกษา พบว่าฟันของหอยกระสวยวงศ์ Diplommatinidae มีลักษณะเป็นแผ่นบางเรียว มีจำนวนแถวของฟันไม่มาก มีสูตรเป็น 1:2:1:2:1 หรือ 3:1:3 ฟันมีลักษณะเรียวแหลม (ภาพที่ 12) แสดงถึงการกินอาหารโดยการตัดหรือฉีกใบพืช ถิ่นที่อยู่อาศัยของหอยวงศ์นี้มักอยู่ที่ผนังหินปูนในไลเคน มอส หรือในซากใบไม้ ในหอยทากจิ๋วปากแตร (Vertiginidae) ลักษณะแผ่นฟันไม่ยาวมาก แต่จะเป็นแผ่นที่มีความกว้าง มีจำนวนแถวฟันมากกว่า มีสูตรเป็น (9:10):(5-7):1:(5-7):(9-10) เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางสถิติของความกว้างของแผ่นฟันกับความกว้างหรือเส้นผ่านศูนย์กลางของเปลือก และเส้นผ่านศูนย์กลางของปากเปลือก (aperture) พบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญที่ $p<0.01$ และ $p<0.05$ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)




ภาพที่ 12. แสดงการวิเคราะห์เชิงคุณภาพของแรดูลาของหอยทากจิ๋ววงศ์ Hydrocenidae (ฟันเป็นแบบเดียวกันทั้งหมด) Diplommatinidae (มีสูตรฟันเป็น 1:2:1:2:1 หรือ 3:1:3) และ Vertiginidae( มีสูตรฟันเป็น (9-10):(5-7):1:(5-7):(9-10)

## ฟันปากเปลือกในการจำแนกหอยทากจิ๋วปากแตร

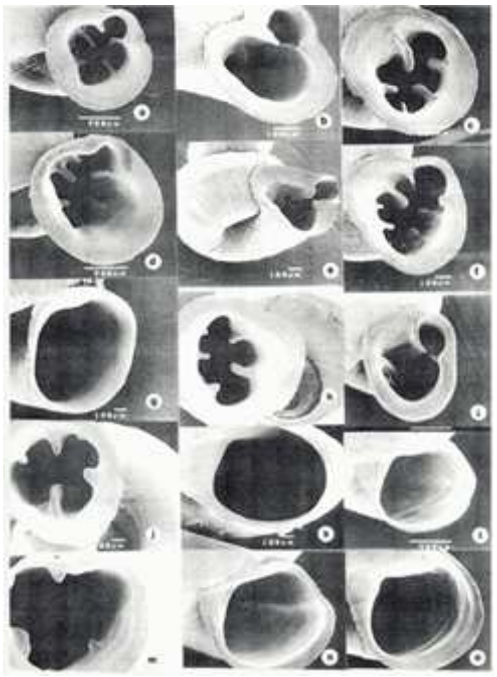
ฟันปากเปลือก (apertural dentition) เป็นลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่จัดว่าเป็นลักษณะจำเพาะของหอยทากจิ๋วปากแตรวงศ์ Vertiginidae หลังจากใช้ฟันปากเปลือกของหอยทากจิ๋วปากแตรจำนวน 35 สปีชีส์ (ภาพที่ 13) ที่ได้จากประเทศไทย และบางส่วนของลาวและเวียดนาม แล้ววิเคราะห์ด้วย cluster analysis ด้วยการตรวจสอบจำนวนและลักษณะของฟันใน 4 ทิศทางของปากเปลือกคือ parietal, palatal, basal และ columellar สามารถจำแนกฟันปากเปลือกได้ และสามารถสร้างไดโคโตมัสคีย์ออกมาเพื่อจำแนกสปีชีส์ของหอยได้ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 3. ความสัมพันธ์ของแรดูลากับเปลือก (Pearson Correlation) (SW, shell width; SH, shell height; VA, vertical aperture width; HA, horizontal aperture width)

| | Radula sheet width | p |
|---|---|---|
| SW | 1.000 | - |
| SH | 0.525 | 0.181 |
| SW | 0.850 | 0.008 |
| VA | 0.825 | 0.012 |
| HA | 0.736 | 0.037 |

1. a) aperture without teeth..... 2
   b) aperture with one or more teeth..... 5
2. a) shell distinctly higher than wide..... 3
   b) SH/SW = 1, or lower than wide..... 4
3. a) last whorl with ridge..... *Systenostoma edentatus*
   b) last whorl without ridge..... *Systenostoma phamon*
4. a) shell with 3 4/5 whorls..... *Krobylos visutti*
   b) shell with 4 4/5 whorls..... *Krobylos pomjuk, Krobylos maehongsonensis and Krobylos danchang*
5. a) aperture with a parietal tooth..... *Montapiculus probosidia*
   b) aperture with two or more teeth..... 6
6. a) aperture with two teeth..... 7
   b) aperture with three or more teeth..... 8
7. a) aperture with one parietal and columellar teeth..... *Costigo notos*
   b) aperture with one parietal and a palatal tooth..... *Systenostoma tamlod*
8. a) aperture with three teeth (two at parietal side and one at palatal side, parietal and palatal teeth location forming two apertural chambers..... 9
   b) aperture with four or more teeth..... 10
9. a) parietal and palatal teeth located very close each other, aperture oval shape..... *Diogmostoma wangviangensis*
   b) parietal and palatal teeth not closed, aperture almost circular..... *Diogmostoma agina*
10. a) aperture has angular and parietal teeth fused..... 11
    b) aperture has single angular tooth ..... 19
11. a) angular and parietal teeth fused almost complete just top position show bifurcation..... 12
    b) angular and parietal fused just base position..... 13
12. a) parietal side with one parietal tooth..... *Boysidia nabhitabhatai*
    b) parietal side without parietal tooth ..... *Boysidia huaykhakang*

13. a) parietal side with one or more parietal tooth…… 14
    b) parietal side without parietal tooth…… 16
14. a) parietal side with one parietal tooth…… 15
    b) parietal side with three parietal tooth…….. *Hypselostoma khaowongensis* and *Hypselostoma surakiti*
15. a) palatal side with two palatal teeth…….. *Hypselostoma theerakupti*
    b) palatal side with three palatal teeth…….. *Hypselostoma erawan*
16. a) columellar side with one columellar tooth……..... 17
    b) columellar side with two columellar teeth…….. *Gastrocopta pisiti*
17. a) aperture with one basal teeth…….. 18
    b) aperture without basal teeth…….. *Hypselostoma utaithaniensis*
18. a) apertural with three palatal teeth…….. *Hypselostoma holimanae*
    b) apertural with two palatal teeth…….. *Systenostoma rayongensis*
19. a) palatal side with one palatal tooth and three deep ridges…….*Systenostoma pangmapaensis*
    b) palatal side without deep ridge ……..... 20
20. a) parietal side with one parietal tooth…… 21
    b) parietal side with two or more parietal teeth…… 25
21. a) basal side without basal tooth…….. 22
    b) basal side with one basal tooth…… 23
22. a) palatal side with three teeth…….. *Hypselostoma cucumensis*
    b) palatal side with two teeth…….. *Gyliotrachela chatnareeae* and *Gyliotrachela loei*
23. a) palatal side with one tooth…….. *Aulacospira smaesarnensis*
    b) palatal side with two or more palatal teeth…… 24
24. a) palatal side with two palatal teeth…… *Hypselostoma chedi* and *Aulacospira lampangensis*
    b) palatal side with three palatal teeth…….. *Antroapiculus pendulus*
25. a) parietal side with two teeth…….. 28
    b) parietal side with three or more teeth…… 26
26. a) palatal side with two teeth……..... *Boysidia tamphatai*
    b) palatal side with three or more teeth…….. 27
27. a) palatal side with three teeth……... *Boysidia tholus*
    b) palatal side with four or more teeth…….. *Gyliotrachela khaochongensis* and *Gyliotrachela srakeoensis*
28. a) basal side with one tooth…….. *Systenostoma phupaman*
    b) basal side without teeth…….. 29
29. a) palatal side with one tooth…….. *Gyliotrachela tridentatus*
    b) palatal side with two or more teeth…….. 30
30. a) palatal side with two teeth…….. *Gyliotrachela hyptiotes* and *Boysidia chiangmaiensis*
    b) palatal side with three teeth…….. *Systenostoma muaklekensis*



ภาพที่ 13. ลักษณะฟันปากเปลือก (apertural dentition) ของหอยจิ๋วปากแตร 15 สปีชีส์ (a) *Systenostoma taruta* (b) *Diogmostoma agina* (c) *Boysidia angthongense* (d) *S. phuphaman* (e) *D. wangviangensis* (f) *B. tamphathai* (g) *S. edentatus* (h) *Antroapiculus pendulus* (i) *B. tholus* (j) *Aulacospira smaesarnensis* (k) *Krobylos visuti* (l) *K. maehongsonensis* (m) *Au. Smaesarnensis* (n) *K. danchangensis* (o) *K. pomjuk*

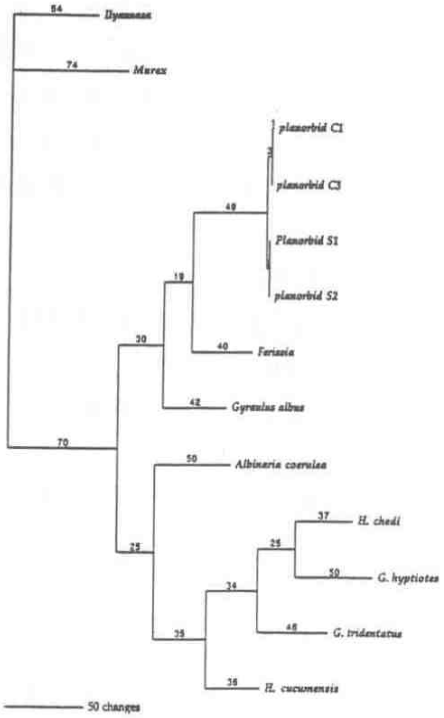
ลักษณะของฟันปากเปลือกเป็นลักษณะที่ได้รับการสนใจตั้งคำถามมากว่ามีประโยชน์อย่างไร อาจเพื่อป้องกันศัตรูที่เป็นแมลงหรือหนอนเล็ก ๆ เนื่องจากไม่มีฝาปิดเปลือก (operculum) หรือเป็นลักษณะที่ใช้ในการดำรงชีวิตในถิ่นอาศัยย่อยที่เป็นแง่หินปูน ขณะที่คณะนักวิจัยกำลังวางแผนทำการวิจัยต่อไป

## การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยทากจิ๋วปากแตร

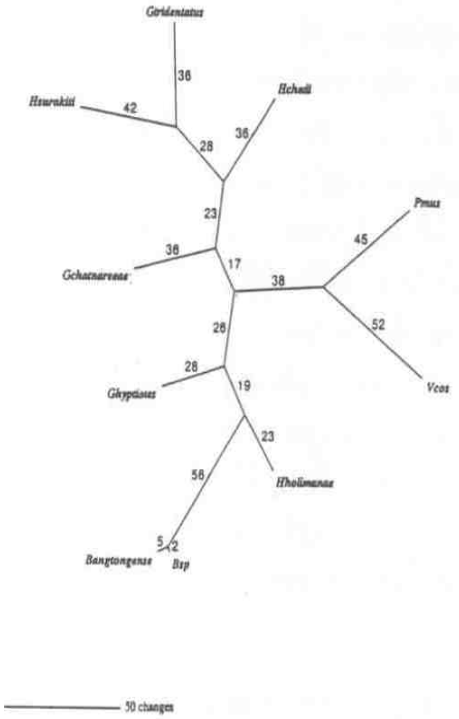
จากข้อมูลการแพร่กระจาย และการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาของเปลือกทำให้เกิดคำถามทางวิวัฒนาการมากมาย เช่น

- Speciation in limestone snails: the standard model
- Endemism
- Do they become isolated because of fragmentation of limestone areas ?
- Do they become isolated because they colonize new hills accidentally ?
- What selective pressure make shell shape evolve ?

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยตรวจสอบจากยีนในแต่ละชนิดของดีเอ็นเอ จะสามารถช่วยให้การวิเคราะห์ทางอนุกรมวิธานมีความถูกต้อง เที่ยงตรง เมื่อข้อมูลทางอนุกรมวิธานถูกต้องสมบูรณ์แล้ว การวิเคราะห์ในเชิงนิเวศวิทยาและวิวัฒนาการจะถูกต้องแม่นยำตามไปด้วย การวิเคราะห์ในเบื้องต้นได้ทดลองสกัดดีเอ็นเอ หลังจากลองใช้ยีน COI ทำการวิเคราะห์ร่วมกับหอยทะเล และหอยทากน้ำจืด (freshwater pulmonate snail) ที่มีข้อมูลอยู่แล้ว สร้าง Phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม PAUP 2000 จะได้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการออกมา ดังภาพที่ 14 หอยทากจิ๋วของไทย 4 สปีชีส์ (*Hypselostoma chedi*, *H. cucumensis, Gyliotrachela hyptiotes* และ *G. tridentatus*) ถูกแยกออกจากกลุ่มอื่นอย่างชัดเจน เช่น ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาทั่วไป โดยมีหอยทากบกของกรีซคือ *Albinaria coerulea* เป็นสปีชีส์ที่ถูกแยกออกจากหอยทากจิ๋วของไทยอย่างชัดเจน เมื่อลองใช้ยีน 16S rDNA หาความสัมพันธ์ของหอยทากจิ๋วของไทย 10 สปีชีส์ และหอยสกุล *Vallonia* ของสหรัฐอเมริกา จะเห็นความสัมพันธ์ดังภาพที่ 15 แต่ค่าในการคำนวณที่ออกมานั้นยังไม่มีความน่าเชื่อถือ เนื่องจากยีนทั้งสองดังกล่าวมีการกลายพันธุ์สูง จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้ตอบคำถามที่ตั้งไว้ได้ จำเป็นต้องหายีนที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ และหาหอยจิ๋วปากแตรอีกหลายสปีชีส์จากหลายภูมิภาค เพื่อเปรียบเทียบให้ชัดเจน




ภาพที่ 14. ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของหอยจิ๋วปากแตร 4 สปีชีส์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยยีน COI แล้วเปรียบเทียบกับหอยกลุ่มอื่น




ภาพที่ 15. ความสัมพันธ์ของหอยทากจิ๋ว 10 สปีชีส์ เมื่อวิเคราะห์ด้วยยีน 16S rDNA

## บทสรุป

หอยทากจิ๋วมีความจำเพาะต่อพื้นที่ หอยแต่ละถิ่นที่อยู่อาศัยจึงอาจต่างสปีชีส์ หรือต่างลำดับทางอนุกรมวิธานได้ ผลการสำรวจที่เสนอมาในเบื้องต้นจะเห็นถึงความหลากหลายของสปีชีส์ในแต่ละท้องถิ่น ซึ่งมีลักษณะจำเพาะของตัวเอง สิ่งที่พอมองเห็นได้ในเบื้องต้นที่ค่อนข้างชัดเจนคือ Vertiginidae เป็นกลุ่มเด่นบนแผ่นดินใหญ่ ในขณะที่ Diplommatinidae เป็นกลุ่มเด่นของเกาะ การศึกษาอนุกรมวิธานพื้นฐานจึงยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญที่สุด การวิเคราะห์ด้วยวิธีวิจัยแบบสหวิทยาการ (multidisciplinary analysis) จะช่วยให้มีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น ดังนั้นการรายงานในโอกาสต่อไปคงสามารถไขปัญหาทั้งหลายของอนุกรมวิธานของหอยทากจิ๋วออกมาได้

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 139035 ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539-2542 นอกจากนี้ ยังได้รับการสนับสนุนอย่างต่อเนื่องจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย The Hitachi Scholarship Foundation, Tokyo, Japan ด้วยทุนไปเสนอผลงาน ณ ต่างประเทศ และทุนศึกษาตัวอย่างต้นแบบในพิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติวิทยาทั่วโลก ได้แก่ The Field Museum, Chicago, National Museum of Natural History, Smithsonian, Washington D.C., University Michigan, Museum of Zoology, Michigan, Raffle Museum, National University of Singapore, Singapore, Sarawak Museum, Sarawak ขอขอบคุณสำหรับการให้ความช่วยเหลือในระหว่างศึกษาตัวอย่างต้นแบบแก่บุคคลต่อไปนี้ Dr. Rudiger Bieler, Dr. Jochen Gerber, Dr. Robert Hershler, Mr. Paul Greehall, Mr. John Slapcinsky, Dr. Peter K. L. Ng, Dr. Leh Moi Ung, Dr. Menno Schilthuizen

งานอนุกรมวิธานหอยทากจิ๋วที่ได้รับความอนุเคราะห์จากเจ้าของพื้นที่อย่างดียิ่งจนงานประสบความสำเร็จ และนักวิจัยมีขวัญและกำลังใจในการทำงานสร้างสรรค์องค์ความรู้ใหม่อย่างต่อเนื่องได้ด้วยความกรุณาจากท่านผู้ตรวจราชการกระทรวงมหาดไทย (อดีตรองผู้ว่าราชการจังหวัดแม่ฮ่องสอน ท่านอมรพันธุ์ นิมานันท์) ทำให้ข้อมูลหอยทากจิ๋วของแม่ฮ่องสอนเป็นตัวบุกเบิกงานที่พัฒนาอย่างสูง คณะผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณท่านผู้เป็นนักบริหารแต่สนับสนุนนักวิชาการไปช่วยกันพัฒนาท้องถิ่นอย่างจริงใจ

จนถึงปัจจุบันการศึกษาในพื้นที่หลายแห่งของไทยได้รับความอนุเคราะห์จากส่วนวิจัยสัตว์ป่า กรมป่าไม้ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี ร่วมกับกองทัพเรือ โดยเฉพาะหน่วยสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ ฐานทัพเรือสัตหีบ Institute of Ecology and Natural Resources, Hanoi Vietnam และ Dr. Dang Ngoc Can, Dr. Ho Thu Cuc, Dr. Nguyen Xuan Dang, Universiti Putra Malaysia, Kuala Lumpur, Universiti Malaysia Sabah, Sarawak Museum, Kuching, Raffle Museum, Singapore

การศึกษาหอยทากจิ๋วจะไม่ก้าวหน้าในระดับที่สูงขึ้น ถ้าไม่ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการองค์ความรู้ใหม่ (พ.ศ.2544-2545) โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษกแก่ผู้ช่วยวิจัย นางสาวปิโยรส ทองเกิด นายจิรศักดิ์ สุจริต นอกจากนั้นโครงการเสริมประสบการณ์สู่ความเป็นเลิศทางวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำให้โครงการหอยทากจิ๋วได้สร้างองค์ความรู้และบุคคลที่รับทุนตามรายชื่อต่อไปนี้ นางสาวปิโยรส ทองเกิด นายจิรศักดิ์ สุจริต นายศักดิ์บวร ตุ้มปี่สุวรรณ และ นางสาววรรณสิริ วรรณรัตน์ คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

นิสิตในห้องปฏิบัติการหอย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อีกหลายคนที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างในบางพื้นที่ต้องขอขอบคุณ นางสาวชัดนารี มีสุขโข นายพงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา นางสาวชนิดาพร วรจักร นายสราวุธ คลอวุฒิมันตร์ นางสาวอัญชิรา มะณีวงศ์

## เอกสารอ้างอิง

สมศักดิ์ ปัญหา, John B. Burch และรองลาภ สุขมาสรวง. 2542. ความหลากชนิดของหอยทากจิ๋วในประเทศไทย. ใน: วิสุทธิ์ ใบไม้ และคณะ(บรรณาธิการ), รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. Work Press Printing กรุงเพทฯ. หน้า 408-412.

Benthem Jutting, and W. S. W., van. 1925. Systematic studies on the non-marine Mollusca of the Indo-Australian Archipelago. *Treubia* 91: 540-603.

Berry, A. J. 1963. An introduction to the non-marine molluscs of Malaya. *Malayan Nature Journal* 17(1,2): 1-18.

Burch, J. B. and S. Panha 2000. The pupillid genus *Anauchen* in Thailand (Pulmonata: Stylommatophora). *Walkerana* 11(26): 239-248.

Dautzenberg, Ph. and H. Fischer. 1905. Liste des mollusques recoltes par M. H. Mansuy en Indo-chine et au Yunnan et description D' especes novelles. *Journal de Chonchyliologie* 53: 343-471.
Franzen, D. S. and A. B. Leonard. 1947. Fossil and living Pupillidae (Gastropoda = Pulmonata) in Kansas. *The University of Kansas Science Bulletin* 31(15): 311-411.
Gude, G.k.1903. A classified list of the helicoid land shells of Asia. *The Journal of Malacology* 10(1): 5-16.
Henley, T. 1994. Reefs to rainforests, mangroves to mountain: a guide to south Thailand is natural wonders. Pawn of Happiness Resort Co., Ltd., Krabi, Thailand. 266 pp.
Mollendorff, O. F. 1894. On a collection of land-shells from the Samui Islands, Gulf of Siam, Proceedings of the Zoological Society of London 146-156.
Panha, S. 1996a. Two new species of *Diplommatina* from Thailand (Prosobranchia: Diplommatinidae). *Walkerana* 8(19): 41-47.
Panha, S. 1996b. A new species of *Opisthostoma* from Thailand (Prosobranchia: Cyclophoroidea: Dipplomatinidae). *Malacological Review* 29: 133-134.
Panha, S. 1997a. Three new species of micro snails from southern Thailand. *Malacological Review* 30(1): 53-60.
Panha, S. 1997b. Three new species of *Hypselostoma* from Thailand (Pulmonata: Vertiginidae). *Malacological Review* 30(1): 61-69.
Panha, S. and J. B. Burch 1996. New species of *Diplommatina* from Thailand (Prosobranchia: Diplommatinidae). *Walkerana* 8(19): 49-62.
Panha, S. and J. B. Burch 1997a. A new cave dweller of the genus *Alycaeus* in Thailand (Prosobranchia: Cyclophoracea: Cyclophoridae). *Malacological Review* 30(2): 119-122.
Panha, S. and J. B. Burch 1997b. A new species of *Gyliotrachela* from Thailand. *Malacological Review* 20(2): 123-126.
Panha, S. and J. B. Burch 1998a. First records and new species of *Boysidia* and *Sinoennea* from Thailand. *Malacological Review* 31(2): 113-118.
Panha, S. and J. B. Burch 1998b. A new species of *Discartemon* from Thailand. *Malacological Review* 31(1): 25-26.
Panha, S. and J. B. Burch 1999a. New species of Pupillidae (Pulmonata: Pupilloidea) from Thailand. *Walkerana* 10(24): 99-120.
Panha, S. and J. B. Burch 1999b. The pupillid genus *Aulacospira* in Thailand (Pulmonata: Stylommatophora). *Walkerana* 10(24): 121-132.
Panha, S. and J. B. Burch 2000. A new species of *Paraboysidia* from Thailand (Pulmonata: Pupillidae). *Walkerana* 11(25): 107-112.
Panha, S. and S. Patamakanthin 2001. A new *Alycaeus* from southern Thailand (Prosobranchia: Cyclophoracea: Cyclophoridae). *Of Sea and Shore* 23(4): 184-190.
Panha, S. and J. B. Burch 2001a. The Pupillidae genus *Paraboysidia* in Thailand (Pulmonata: Stylommatophora). *Walkerana* 12(28) in press.
Panha, S. and J. B. Burch 2001b. Terrestrial Microsnails of Thailand. *Malacological Review* Supplement Number 9, in press.
Pfeiffer, L. 1870-1876. Beschreibung und Abbidung never oder kritischer Land und Susswasser-Mollusken. Novitates Conchologicae. Series Prima Mollusca Extramarina 4: 1-171, pls. 109-137.
Pilsbry, H. A. 1916-1918. Pulmonata, Pupillidae (Gastrocoptinae). Manual of Conchology, The Conchlogical Department Academy of Natural Sciences of Philadelphia 24: 214-215.
Solem, A. 1981. Land-Snail biogeography: A true snails Pace of Change. In: Gareth Nelson and Donn E. Rosen Vicariance Biogeography. Proceedings of Symposium of the Systematics Discussion Group of the American Museum of Natural History, May 2-4, 1979. pp. 197-237.
Thompson, F. G. and H. G. Lee. 1988. *Hypselostoma holimanae* new species, a pupillid land snail from Thailand. *The Nautilus* 102(2): 78-81.
Thompson, F. G. and S. Upatham. 1997. Vertiginid land snails from Thailand (Gastropoda: Pulmonata: Pupilloidea). *Bulletin of the Florida Museum of Natural History* 39(7): 221-245.
Vermeulen, J. J. 1991. Notes on the non-marine molluscs of the island of Borneo 2. The genus *Opisthostoma* (Gastropoda: Prosobranchia: Diplommatinidae). *Basteria* 55: 139-163.
Vermeulen, J. J. 1993. Notes on the non-marine molluscs of the island of Borneo 5. The genus *Diplommatina* (Gastropoda: Prosobranchia: Diplommatinidae). *Basteria* 57: 3-69.
Vermeulen, J. J. 1994. Notes on the non-marine molluscs of the island of Borneo 6. The genus *Opisthostoma* (Gastropoda: Prosobranchia: Diplommatinidae). *Basteria* 58(3-4): 73-191.
Whitten, T., R. E. Soeriaatmadja and S. A. Afiff. 2000. The ecology of Indonesian series Volume II: The ecology of Java and Bali. Periplus (HK) Ltd. pp. 88-89.
Zilch, A. 1953. Die typen und typoide des Natur-Museums Senckenberg, 9: Mollusca: Cyclophoridae, Diplommatinidae. *Archiv fur Molluskenkunde*, 82(1/3): 1-47.
Zilch, A. 1961. Die typen und typoide des Natur-Museums Senckenberg, 24: Mollusca: Streptaxidae. *Archiv fur Moluskenkunde* 90(1/3): 79-120.
Zilch, A. 1984. Die typen und typoide des Natur-Museums Senckenberg, 74: Mollusca: Pupillacea. *Archiv fur Molluskenkunde* 115(1/3): 151-177.

# ความหลากหลายของแมลงกินได้และการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของจิ้งหรีดหางสั้น (จิโปม) สกุล *Brachytrupes* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

**ยุพา หาญบุญทรง[1] และ อาจินต์ รัตนพันธุ์[2]**

[1]ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง ขอนแก่น 40002

[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ. เมือง มหาสารคาม 44150

**Abstract: Edible Insect Diversity and Cytogenetic Study of Short-Tailed Crickets in the Genus *Brachytrupes* in Northeastern Thailand**

This edible insect diversity study was conducted according to two procedures. Firstly, questionnaires were distributed to correspondents in 19 provinces. Sixty two locally named edible insects were recorded. Of those, the giant water bug was the most favored and was eaten by 99.05% of the corespondents. Thirty two kinds of insects were eaten by over 50% of the corespondents. It is remarkable that another 15 kinds of edible insects such as Trigonalidae, cicadads and various kinds of dung beetles beetles were rarely found in some locations. A wide range of edible insect species can be found during the late dry season through to the rainy season (April-July). Taste is the main reason for eating insects for 74.33% of the correspondents. About 92.72% of local people eat cooked insects. Secondly, the edible insect diversity was monitored in the field every month through the year 1999 at three villages of Muang District, Khon Kaen province including Ban Song Puey, Ban Non Ruang and Ban Rat Chakarn. One hundred and fifty eight species of edible insects of 101 genera, 32 families and 8 orders were identified. Among these, 107 species were recorded as edible insects for the first time. The scarab beetles (Scarabaeidae) with 60 species was the largest group of edible insects. In addition, the cytogenetics of the giant cricket (*Brachytrupes potentosus* Lichtenstien) from seven different populations in the Northeast was studied by using the hypotonic – fixation – air drying technique. The chromosome was extracted from cells in the hepatic caeca or gastric caeca and solid or conventional staining with Giemsa were used for chromosome staining. The results showed that all individuals had asymmetrical karyotypes and consisted of two chromosome types of metacentric and telocentric chromosome with chromosome number 2n=9 to 16. Three types of male sex chromosomes including XO, ZZ and XY were observed. The male chromosome numbers were 2n=9 to 12 with four different karyotypes. Males with chromosome numbers 2n=8+XO showed two kinds of karyotype, i.e., $L_1^m+M_6^m+S_2^t$ and $L_5^m+M_2^m+S_2^t$. While males with chromosome numbers 2n=8+ZZ and 2n=10XY had chromosome karyotypes $L_6^m+M_2^m+S_2^t$ and $L_7^m+M_2^m+S_3^t$ respectively. Meanwhile only one type of female sex chromosome XX was found. Chromosome numbers in females were 2n=10+XX and 2n=14+XX corresponding to karyotypes of $L_8^m+M_2^m+S_2^t$ and $L_8^m+M_2^m+S_6^t$ respectively. The variation in the number of chromosomes and karyotype formulae within each sex suggested that *B. potentosus* in the Northeast of Thailand is a complex species group.

**Key words:** *Brachytrupes*, edible insect, cytogenetics, short-tailed cricket

## บทนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของแมลง แมลงกินได้เป็นชนิดหนึ่งที่มีความหลากหลาย และคาดว่ามีอยู่เป็นจำนวนมาก แต่การศึกษาในเรื่องนี้ยังมีน้อย และขาดข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการค้นคว้าและพัฒนา แหล่งความรู้เชิงภูมิปัญญาท้องถิ่นที่กระจัดกระจายอยู่ทั่วไปในชนบทนั้น ยังขาดการศึกษารวบรวมและจัดระบบ ความเร่งด่วนอีกประการหนึ่งของการศึกษาแมลงกินได้ คือ การศึกษาด้านกีฏวิทยาในประเทศไทย ซึ่งมักเน้นเฉพาะการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจสำคัญ ๆ เพียงด้านเดียว ส่วนการจำแนกชนิดทางวิทยาศาสตร์นั้นยังไม่พบรายงานที่ครอบคลุมแมลงในกลุ่มนี้มากนัก จึงควรมีการศึกษาจำแนกชนิดอย่างถูกต้อง เพื่อให้สามารถทราบว่าแมลงชนิดใดกินได้หรือกินไม่ได้ ลดความเสี่ยงอันตรายที่อาจได้รับจากการบริโภคแมลง เพราะแมลงมีพิษบางชนิดดูลักษณะภายนอกแล้วคล้ายคลึงกับแมลงกินได้ และบางครั้งพบว่าการเรียกชื่อแมลงกินได้จะแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น ทั้ง ๆ ที่เป็นแมลงชนิดเดียวกัน จึงศึกษาเพื่อจัดจำแนกหมวดหมู่ของแมลงกินได้ให้เป็นระบบ สามารถตรวจสอบชื่ออย่างเป็นสากลได้ และผลจากการศึกษานี้อาจเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการหาแนวทางป้องกันไม่ให้

เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อมจากการบริโภคแมลงของมนุษย์

การจัดจำแนกชนิดแมลง ส่วนใหญ่มักใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ซึ่งทำได้สะดวก แต่บางครั้งการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่สามารถจำแนกชนิดได้ โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกัน หรือกลุ่มที่มีความซับซ้อนและมีความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) หรือในประชากรที่มีรูปร่างภายนอก (phenotypes) หลายรูปแบบ จึงจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคชั้นสูงเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการจัด ในการศึกษานี้ใช้การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) ใน จิโปม (จิ้งหรีดหางสั้น) สกุล *Brachytrupes* และพบว่าแมลงสกุลนี้ในประเทศไทยได้รับการจัดจำแนกชื่อไว้เพียง 1 ชื่อเท่านั้น คือ *Brachytrupes portentosus* Lichtenstein และยังไม่พบการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ของเซลล์ หรือเซลล์อนุกรมวิธาน (cytotaxonomy) มาใช้เป็นข้อมูลประกอบในการจัดจำแนกชนิด ผลจากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำเทคนิคและวิธีการศึกษาโครโมโซมที่เหมาะสมไปใช้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางอนุกรมวิธาน ที่จะนำไปสู่การจำแนกชนิดและการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพร่วมกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและนิเวศวิทยาได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ ยังสามารถนำวิธีการนี้ไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาโครโมโซมของแมลงชนิดอื่นได้ต่อไป

## ความหลากหลายทางชีวภาพของแมลง

แมลงเป็นสัตว์โลกที่มีทั้งชนิดและปริมาณมากที่สุดในโลก มีความหลากหลายของชนิดมากถึงร้อยละ 50.8 ของสิ่งมีชีวิตในโลก (วิสุทธิ์, 2538) โดย Arnett (1985 อ้างถึงใน Romoser, 1998) รายงานไว้ว่ามีแมลงที่ทราบชื่อแล้วมากกว่า 751,012 ชนิด สำหรับประเทศไทยมีการวินิจฉัยชื่อแล้วเพียง 6,121 ชนิดเท่านั้น (วิสุทธิ์, 2538) แมลงจัดเป็นมวลชีวภาพที่มีความสำคัญต่อระบบนิเวศและความหลากหลายทางธรรมชาติมากกลุ่มหนึ่ง คนทั่วไปมักเข้าใจว่าแมลงส่วนใหญ่เป็นศัตรูพืชและสัตว์ แต่แท้จริงแล้วมีเพียงจำนวนน้อยที่ให้โทษ คิดเป็นร้อยละ 0.1 เท่านั้น ส่วนอีกร้อยละ 99.9 เป็นแมลงที่มีประโยชน์หรือไม่ให้คุณให้โทษแต่ประการใด แมลงที่มีประโยชน์เหล่านี้ส่วนหนึ่งเป็นแมลงที่มนุษย์ใช้เป็นอาหาร แต่ยังไม่ทราบจำนวนชนิดที่แน่นอน Vane-Wright (1991) กล่าวไว้ว่า มีแมลงประมาณ 500 ชนิด เป็นแมลงกินได้ ส่วน Price (1999) รายงานว่า มีแมลงจำนวน 1,462 ชนิด ที่ได้รับการจดบันทึกว่าเป็นแมลงกินได้ สำหรับประเทศไทย วรากร และคณะ (2518) คาดว่ามีแมลงมากกว่า 50 ชนิด เป็นแมลงกินได้ องุ่น (2531) ได้กล่าวถึงแมลงที่มีผู้นิยมรับประทานกันมากในประเทศไทยจำนวน 28 ชนิด ในภาคเหนือ Utsunomiya and Masumoto (1999) พบว่า มีด้วงปีกแข็งจำนวน 70 ชนิด เป็นอาหารได้ ส่วนภาคใต้ ศุภผล (2527) พบแมลงกินได้จำนวน 14 ชนิด และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยพบแมลงกินได้มากกว่า 50 ชนิด แมลงเหล่านี้มีทั้งที่เป็นและไม่เป็นศัตรูพืช (พิทักษ์พงศ์ และคณะ, 2540) สุภาพ และคณะ (2542) พบแมลงที่เป็นอาหารในเขต จ.ขอนแก่น 22 ชนิด องค์ความรู้เกี่ยวกับการจัดจำแนกแมลงมักได้รับการถ่ายทอดในลักษณะภูมิปัญญาท้องถิ่น และวัฒนธรรมการกินเป็นส่วนใหญ่ เช่น แบ่งแยกชนิดแมลงตามสี ขนาดลำตัว วัย สถานที่พบ ฯลฯ แต่ยังไม่พบการศึกษาจำแนกชนิดแมลงกินได้โดยนักกีฏวิทยาอย่างแท้จริงมากนัก รวมทั้งความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับแมลงยังมีอยู่น้อย ในขณะที่การรุกรานทรัพยากรและความเสื่อมโทรมของสภาวะแวดล้อมขยายตัวอย่างรวดเร็วตามอัตราการพัฒนาของโลก โอกาสที่แมลงจะถูกทำลาย รวมไปถึงการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพ จึงอยู่ในอัตราเสี่ยงสูง ถ้าหากยังคงจับแมลงจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์เพียงถ่ายเดียว

## การนำแมลงมาเป็นอาหาร

แมลงที่เป็นอาหารมนุษย์พบได้ทั่วโลกตั้งแต่สมัยก่อนประวัติศาสตร์ Vane-Wright (1991) และ Unger (1999) พบว่า ชนพื้นเมืองในหลายๆ ประเทศนำแมลงมาเป็นอาหารมานานแล้ว ในศตวรรษที่ 18 ลอว์เรนซ์ มุนต์ นักกีฏวิทยาจากพิพิธภัณฑ์ประวัติศาสตร์และธรรมชาติวิทยา สหรัฐอเมริกา ได้นำเสนอว่าคนเราสามารถนำ “เหา” มากินเป็นอาหารได้ (ธนิต, 2538) แต่ก่อนหน้านี้พบว่า ประชากรโลกที่อยู่นอกทวีปอเมริกาเหนือและยุโรปบริโภคแมลงเป็นอาหารประจำวันอยู่แล้ว ประเทศในแถบเอเชีย เช่น อาหรับ อินเดีย เกาหลี ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ ปาปัวนิวกินี อินโดนีเซีย พม่า ลาว ไทย ฯลฯ นิยมนำแมลงมาเป็นอาหารโดยการ ปิ้ง แกง ทอด ขนมพาย ดอง (Elzinger อ้างถึงใน นฤมล, 2525; จารุ

วรรณ และคณะ, 2540) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Keninga (1999) ที่พบว่า แมลงสาบ หนอนแมลงวัน แมลงชีปะขาว และแมลงหนอนปลอกน้ำเป็นแมลงที่สามารถบริโภคได้ สำหรับเหตุผลในการรับประทานแมลงนั้น Huang (1998) พบว่ามีรสชาติอร่อย

ในประเทศไทยพบว่า มีแมลงศัตรูพืชสำคัญๆ หลายชนิดสามารถนำมาเป็นอาหารมนุษย์และเป็นแหล่งโปรตีนได้ (เจริญ, 2532) มีการรณรงค์ส่งเสริมด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อให้หันมานิยมบริโภคแมลงมากขึ้น จนกระทั่งกลายมาเป็นอาชีพจับแมลงขาย เช่น ตั๊กแตน หนอนเยื่อไผ่หรือหนอนรถด่วน (สมหมาย, 2536) แต่บางชนิดมีน้อยและเริ่มหายากจึงต้องสั่งนำเข้า ซึ่งจะมีราคาสูง ดังนั้น ถ้าหากได้ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นการค้าคาดว่าน่าจะเป็นแหล่งรายได้ที่น่าสนใจในอนาคต ขณะนี้ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล จ.สกลนคร ได้นำแมลงหลายชนิด เช่น ตั๊กแตน จิ้งหรีด แมลงกระชอน แมลงตับเต่า แมลงเหนี่ยง ไข่มดแดง ฯลฯ บรรจุกระป๋องจำหน่าย เป็นที่สนใจของผู้คนแขนงต่างๆ

การกินแมลงเป็นเอกลักษณ์อย่างหนึ่งของนิสัยการกินของคนชนบทในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีแมลงหลากหลายชนิดกินได้ในทุกระยะการเจริญเติบโต การที่จะทราบว่าแมลงชนิดใด หรือวัยใดรับประทานได้หรือไม่ได้ และมีกรรมวิธีในการรับประทานอย่างไรนั้น เป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นที่สืบทอดกันมาจากบรรพบุรุษ (องุ่น, 2531, 2540; จารุวรรณ และคณะ, 2540) ส่วนใหญ่อาหารของคนชนบทในภาคอีสานได้มาจากธรรมชาติตามท้องไร่ท้องนา อาหารดังกล่าวรวมถึงแมลงชนิดต่างๆ ด้วย ประพิมพร และคณะ (2529) พบว่า ชาวบ้านนิยมนำแมลงมาปรุงเป็นอาหารทุกฤดูกาล

**การจัดจำแนกชนิดแมลงกลุ่มจิ้งหรีดโดยเทคนิคทางด้านเซลล์ล์พันธุศาสตร์**

การศึกษาเซลล์ล์พันธุศาสตร์ในปัจจุบัน มีจุดประสงค์เพื่อตรวจสอบรายละเอียดความสัมพันธ์ของเซลล์ล์วิทยากับชนิด (species) ของสิ่งมีชีวิตจากการประเมินคุณลักษณะของโครโมโซม เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการจัดจำแนกอนุกรมวิธาน สำหรับการศึกษาเซลล์ล์พันธุศาสตร์ของแมลงในกลุ่มจิ้งหรีดนั้นพบว่ามีรายงานบ้าง ได้แก่ Manna and Bhattacharjee (1964) รายงานว่า แมลงกลุ่มจิ้งหรีดมีฟิโนไทป์ของโครโมโซมหลายรูปแบบ (chromosomal polymorphism) มีความแปรปรวนทั้งรูปร่างและจำนวน โดยพบว่าจิ้งหรีดวงศ์ Gryllidae เพศผู้มีจำนวนโครโมโซม 2n อยู่ระหว่าง 11 ถึง 31 และ Handa et al. (1985) ชี้ให้เห็นว่าแมลงในวงศ์นี้มีลักษณะโครโมโซมกำหนดเพศเป็นแบบ XO คือ เพศผู้มีโครโมโซม X เพียงแท่งเดียว อำพา และคณะ (2542) พบว่าจิ้งหรีดวงศ์ Gryllidae ที่ยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์ No.85 เพศผู้มีจำนวนโครโมโซม 2n = 11 และมีโครโมโซมเพศเป็นแบบ XO เช่นกัน

Fox et al. (1985) กล่าวว่า การกำหนดเพศของแมลงอันดับ Orthoptera เช่น จิ้งหรีด ตั๊กแตน มีระบบการกำหนดเพศต่างจากสัตว์อื่น คือ เพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น XX ส่วนเพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็น X เพียงแท่งเดียว เพศผู้จึงมีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่าเพศเมียอยู่ 1 แท่งเสมอ แต่สำหรับการศึกษาจำนวนโครโมโซมและรูปแบบคาริโอไทป์ของจิโปมยังไม่พบรายงานมาก่อน ดังนั้น ผลการศึกษาครั้งนี้จัดเป็นข้อมูลพื้นฐานของ metaphase chromosome สำหรับแมลงชนิดนี้ ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจที่จะศึกษาเกี่ยวกับ cytotaxonomy และ population cytogenetics ของแมลงชนิดนี้ ซึ่งจัดเป็นแมลงที่มีมูลค่าค่อนข้างสูงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

**ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับแมลงกินได้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ**

จากการสำรวจข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับแมลงกินได้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้แบบสอบถามผ่านไปทางหน่วยงานราชการต่างๆ สัมภาษณ์ข้อมูลจากผู้รู้ หรือบุคคลคนทั่วไปในชนบทภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้ง 19 จังหวัด เลือกผู้ตอบโดยวิธีการสุ่มตัวอย่าง (random sampling method) ส่งแบบสอบถามไปยังจังหวัดต่างๆ จังหวัดละ 50 ชุด รวม 950 ชุด และได้รับแบบสอบถามกลับจำนวน 526 ชุด คิดเป็นร้อยละ 55.37 ของแบบสอบถามที่ส่งไปทั้งหมด

*ชนิดของแมลงกินได้* มีแมลงกินได้ใน 19 จังหวัด ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยนับจำนวนชนิดแมลงจากชื่อท้องถิ่นที่ใช้เรียกแมลงจำนวน 62 ชนิด พบว่า แมลงดานาเป็นแมลงที่มีผู้ตอบว่ารับประทานได้มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 99.05 ของผู้ตอบแบบสอบถาม แมลงจำนวน 20 ชนิดแรก ได้แก่ แมลงดานา ด้วงดิ่ง ไข่มดแดง แมลงกระชอน แม่เป้ง มดแดง จิ้งหรีด ตัวอ่อนแมลงปอ แมลงเม่า จิโปม ผึ้ง ด้วงน้ำ แมลงกินูน ตั๊กแตนหนวดสั้น (ตั๊กแตนโม) ตั๊กแตน

หนวดยาว (ตั๊กแตนแมงมัน) ต่อ ผึ้งมิ้ม จักจั่น มวนวน และด้วงกว่าง มีผู้ตอบว่ารับประทานได้ร้อยละ 60.08 ถึง 99.05 ของผู้ตอบแบบสอบถาม แมลงอีก 11 ชนิด ได้แก่ แมลงกินูน (กินูนใหญ่ กินูนเหลื่อม กินูนหลวง) แตน จิ้งหรีด (จิหล่อ จินาย) แมลงกุดจี่ (กุดจี่เบ้า แมลงกุดจี่หวาย) ตั๊กแตนหนวดสั้น (ตั๊กแตนปาทังก้า ตั๊กแตนง้าว) และมวนแมงป่องน้ำ มีผู้ตอบว่ารับประทานได้ร้อยละ 50.76 ถึง 59.13 ของผู้ตอบแบบสอบถาม นอกจากนี้ ยังมีแมลงอีก 30 ชนิด ที่รับประทานได้คิดเป็นร้อยละ 9.89 ถึง 49.05 ของผู้ตอบแบบสอบถาม และพบว่า นางพญาปลวก มีผู้ตอบว่ารับประทานได้น้อยที่สุด คือ จำนวน 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.57 ของผู้ตอบแบบสอบถามเท่านั้น ตัวอย่างแมลงกินได้ 10 อันดับแรกจากการตอบแบบสอบถามดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1. ตัวอย่างแมลงกินได้ 10 อันดับแรก ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

| ชื่อสามัญ | ชื่อท้องถิ่น | จำนวนผู้ตอบ | ร้อยละ |
|---|---|---|---|
| 1. แมลงดานา | แมงดา | 521 | 99.05 |
| 2. ด้วงดิ่ง | แมงตับเต่า, กิเต่า | 495 | 94.11 |
| 3. ไข่มดแดง | ไข่มดแดง | 493 | 93.73 |
| 4. แมลงกระชอน | แมงกิซอน | 436 | 82.89 |
| 5. แม่เป้ง | แม่เป้ง | 431 | 81.94 |
| 6. มดแดง | มดแดง | 429 | 81.56 |
| 7. จิ้งหรีด | จิหลีด, กีดีด | 427 | 81.18 |
| 8. ตัวอ่อนแมลงปอ | แมงละง่ำ | 410 | 77.95 |
| 9. แมลงเม่า | แมงเม่า | 401 | 76.24 |
| 10. จิโปม, จิ้งหรีดหางสั้น | จิโป่ม | 386 | 73.38 |

*แมลงกินได้ที่ปัจจุบันหายากในบางพื้นที่* จากแบบสอบถามพบว่า ในบางพื้นที่นั้นแมลงกินได้หลายชนิดที่เมื่อก่อนเคยมีรับประทานแต่ปัจจุบันกลับหาได้ยาก พบในปริมาณน้อย หรือบางชนิดไม่พบอีกเลย มีจำนวน 14 ชนิด โดยแมลง 3 อันดับแรก ได้แก่ ชันโรง จักจั่น และด้วงมูลสัตว์ คิดเป็นร้อยละ 34.60, 34.22 และ 30.42 ของผู้ตอบแบบสอบถามตามลำดับ นอกจากนี้ ยังมีผึ้ง หนอนเยื่อไผ่ ด้วงกว่าง แมลงค่อมทอง แมลงดานา ตัวอ่อนด้วงที่อาศัยอยู่ในต้นไม้ แมลงที่อยู่ในน้ำ ตัวอ่อนด้วงที่อาศัยอยู่ในดิน ดักแด้ไหม ด้วงที่กินใบไม้เป็นอาหาร และมดแมลงมัน

*แหล่งอาศัยและแหล่งที่พบแมลงกินได้* แหล่งที่อยู่อาศัยของแมลงกินได้จากการสำรวจมีทั้งในน้ำ บนบก ในดิน และแมลงจากแหล่งเพาะเลี้ยง ขึ้นอยู่กับว่าจะนำแมลงในวัยใดมาเป็นอาหาร แมลงที่อาศัยอยู่ในน้ำ ได้แก่ แมลงดานา ด้วงดิ่ง ตัวอ่อนแมลงปอ ตัวอ่อนแมลงปอ ด้วงน้ำ มวนวน มวนแมงป่องน้ำ แมลงดาสวน และตัวอ่อนด้วงดิ่งหรือตัวอ่อนด้วงดิ่ง ส่วนแมลงที่อาศัยอยู่บนบกส่วนใหญ่พบได้ทั่วไปตามพืชอาหาร และพืชอาศัยต่างๆ เช่น จิ้งหรีดต่างๆ สำหรับแมลงที่อาศัยอยู่ในดิน เช่น แมลงกระชอน มักอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความชุ่มชื้นหรือชื้นแฉะตามริมแหล่งน้ำและทุ่งนา แหล่งอาศัยในดินตามไร่ สวน ที่ดอนหรือที่ราบทั่วไป มักพบจิโปม รวมถึงในดินบริเวณโคนต้นไม้ จะพบพวกแมลงกินูนชนิดต่างๆ และพบพวกแมลงกุดจี่ในกองมูลสัตว์บนพื้นดิน

*การรับประทานแมลง* คนในท้องถิ่นภาคตะวันออกเฉียงเหนือรับประทานแมลงได้ทั้งสุกและดิบ จากการสำรวจพบว่า รับประทานดิบคิดเป็นร้อยละ 7.28 ซึ่งมีทั้งรับประทานสดโดยไม่ต้องผ่านการปรุง เช่น ตัวอ่อนผึ้ง ต่อ แตน ผึ้งมิ้ม ชันโรง ไข่มดแดง รวมทั้งแม่เป้งและตัวมดแดง แมลงค่อมทอง ตั๊กแตนต่างๆ ฯลฯ และรับประทานดิบโดยผ่านการปรุง เช่น ปรุงเป็นก้อย น้ำพริก แต่ส่วนใหญ่นิยมรับประทานสุก คิดเป็นร้อยละ 92.72 ที่นิยมมาก คือ การคั่ว ทอด และแกง คิดเป็นร้อยละ 52.72, 26.95 และ 11.92 ตามลำดับ เช่น ตั๊กแตนต่างๆ แมลงกินูน แมลงกุดจี่ ฯลฯ นอกจากนี้ยังนำไปปรุงเป็นน้ำพริก ป่น แจ่ว ย่าง ปิ้ง เผา จี่ ยำ ก้อย ห่อหมก นึ่ง ต้ม ลาบ เมี่ยง เช่น แมลงดานา จิ้งหรีดต่างๆ ผึ้ง ต่อ แตน ฯลฯ หรือปรุงรสในอาหารเพื่อให้ความเปรี้ยวแทนความเปรี้ยวจากส้มต่างๆ เช่น มดแดง การเก็บแมลงในรูปการถนอมอาหารด้วยการทำจ่อม เช่น มวนวน และด้วงน้ำ ดองน้ำปลา เช่น แมลงดานา การนำแมลงไปประกอบเป็นตำรับยาด้วยการดองเหล้าเพื่อเป็นยา เช่น น้ำผึ้ง นางพญาปลวก และรับประทานน้ำหวาน ได้แก่ น้ำหวานจากผึ้ง และผึ้งมิ้ม เป็นต้น

*เหตุผลในการรับประทานแมลง* พบว่า มีผู้รับประทานแมลงเนื่องจากมีรสชาติอร่อยสูงถึงร้อยละ 74.33 รองลงมา รับประทานเพราะเป็นของแกล้มเหล้าได้ เป็นของว่างได้เป็นอย่างดี มีประโยชน์ต่อร่างกายใช้แทนยาได้ และเป็นกับข้าวได้เป็นอย่างดี คิดเป็นร้อยละ 70.34, 59.32, 48.29 และ 48.29 ตามลำดับ นอกจากนี้ รับประทานเพราะแมลงเป็นเครื่องปรุงรสได้ เช่น แมลงดานา ตัวมดแดง หาได้ง่าย ไม่มีอาหารอย่างอื่นจะรับประทาน ใช้เป็นอาหารหลักได้ เลี้ยงเองได้จึงรับประทาน เช่น ผึ้ง ต่อ ดักแด้ไหม มดแดง เป็นวัฒนธรรมที่สืบทอดมาจากบรรพบุรุษ ปลอดสารพิษ เป็นอาหารที่มีในท้องถิ่น เป็นอาหารตามฤดูกาล ราคาถูก และช่วยกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น (ตารางที่ 2)

### การติดตามและเก็บรวบรวมประชากรแมลงกินได้

สำรวจและเก็บรวบรวมประชากรแมลงกินได้ในหมู่บ้านสงเปือย บ้านโนนเรืองและบ้านราชการ อ.เมือง จ.ขอนแก่น เดือนละ 1 ครั้งๆ ละ 1 วัน เป็นเวลา 1 ปี คัดแยกชนิดแมลงกินได้โดยผู้รู้ในหมู่บ้าน จำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ เก็บรักษาตัวอย่างแมลงในรูปตัวอย่างแห้ง ติดป้ายบอกชื่อแมลง สถานที่เก็บ วัน เดือน ปีที่เก็บ และชื่อผู้เก็บวิเคราะห์ชนิดด้วยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเปรียบเทียบตัวอย่างจากพิพิธภัณฑ์แมลง ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น พิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ ฯ หลังจากนั้นตรวจสอบความถูกต้องของชื่อวิทยาศาสตร์โดยผู้เชี่ยวชาญแต่ละกลุ่มแมลงจากประเทศญี่ปุ่นและประเทศออสเตรีย

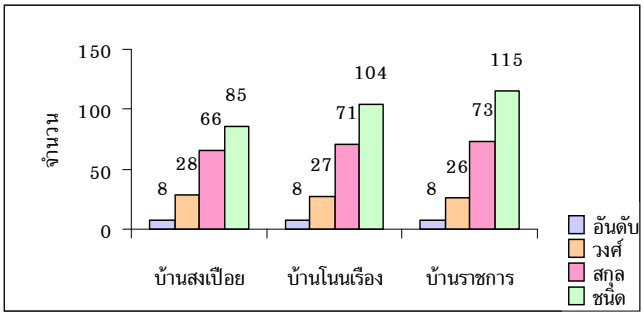
### ความหลากหลายชนิด

พบแมลงกินได้จัดจำแนกได้ 8 อันดับ ได้แก่ Coleoptera, Hemiptera, Homoptera, Hymenoptera, Isoptera, Lepidoptera, Odonata และ Orthoptera จำนวน 32 วงศ์ 101 สกุล 158 ชนิด ทุกหมู่บ้านพบแมลงกินได้ทั้ง 8 อันดับ โดยพบแมลงกินได้จากบ้านสงเปือย จำนวน 85 ชนิด 66 สกุล จาก 28 วงศ์ บ้านโนนเรืองพบจำนวน 104 ชนิด 71 สกุล จาก 27 วงศ์ และบ้านราชการพบจำนวน 115 ชนิด 73 สกุล จาก 26 วงศ์ (ภาพที่ 1 และตารางที่ 3) ในจำนวนนี้ทราบชื่อแล้วจำนวน 106 ชนิด และยังไม่ทราบชื่อจำนวน 51 ชนิด

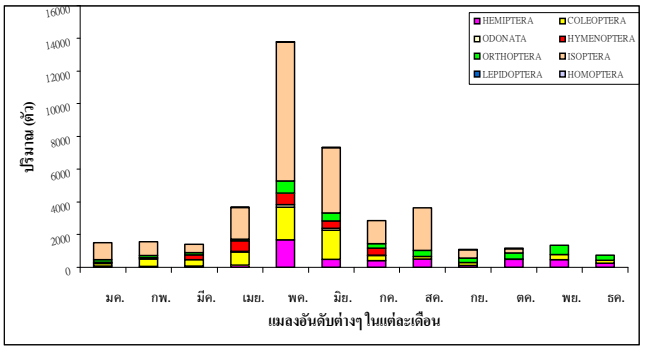
การศึกษาในครั้งนี้ พบชนิดแมลงกินได้นอกเหนือจากรายงานของเอกสารที่ตรวจพบ ว่าเป็นแมลงกินได้จำนวน 108 ชนิด 68 สกุล 22 วงศ์ จาก 7 อันดับ ได้แก่ แมลงในอันดับ Coleoptera จำนวน 5 วงศ์ 38 สกุล 74 ชนิด อันดับ Hemiptera จำนวน 5 วงศ์ 6 สกุล 8 ชนิด อันดับ Orthoptera จำนวน 8 วงศ์ 19 สกุล 21 ชนิด อันดับ Homoptera จำนวน 1

ตารางที่ 2. เหตุผลในการรับประทานแมลงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

| เหตุผล | จำนวน (คน) | ร้อยละ |
|---|---|---|
| 1. อร่อย | 391 | 74.33 |
| 2. เป็นของแกล้มเหล้าได้ | 370 | 70.34 |
| 3. เป็นของว่างได้เป็นอย่างดี | 312 | 59.32 |
| 4. มีประโยชน์ต่อร่างกายใช้แทนยาได้ | 254 | 48.29 |
| 5. เป็นกับข้าวได้เป็นอย่างดี | 254 | 48.29 |
| 6. เป็นเครื่องปรุงรสได้ | 168 | 31.94 |
| 7. หาได้ง่าย | 160 | 30.42 |
| 8. ไม่มีอาหารอย่างอื่นจะรับประทาน | 158 | 30.04 |
| 9. เป็นอาหารหลักได้ | 120 | 22.81 |
| 10. เป็นสัตว์เศรษฐกิจเลี้ยงเองได้ เช่น ผึ้ง ต่อ ดักแด้ไหม มดแดง | 100 | 19.01 |
| 11. เป็นวัฒนธรรมที่สืบทอดมาจากบรรพบุรุษ | 49 | 9.32 |
| 12. ปลอดจากสารพิษ จับง่าย(ดักแด้ไหม) | 11 | 2.09 |
| 13. เป็นอาหารที่มีในท้องถิ่น | 10 | 1.90 |
| 14. เป็นอาหารตามฤดูกาล | 10 | 1.90 |
| 15. ราคาถูกและช่วยกำจัดแมลงศัตรูพืช | 2 | 0.38 |




ภาพที่ 1. เปรียบเทียบจำนวน ชนิด สกุล วงศ์ และอันดับของแมลงกินได้ที่พบจากการติดตามและเก็บตัวอย่างประชากรจากบ้านสงเปือย บ้านโนนเรือง และบ้านราชการ อ.เมือง จ.ขอนแก่น ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม 2542




ภาพที่ 2. ปริมาณแมลงกินได้แต่ละอันดับในแต่ละเดือนจากบ้านสงเปือย บ้านโนนเรือง และบ้านราชการ อ.เมือง จ.ขอนแก่น จากการติดตามและเก็บรวบรวมประชากรระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม 2542

วงศ์ 2 สกุล 2 ชนิด อันดับ Hymenoptera จำนวน 1 วงศ์ 1 สกุล 1 ชนิด อันดับ Isoptera จำนวน 1 วงศ์ 1 สกุล 1 ชนิด และอันดับ Odonata จำนวน 1 วงศ์ 1 สกุล 1 ชนิด (สัญลักษณ์* ในตารางที่ 3) ส่วนใหญ่เป็นแมลงในวงศ์ Scarabaeidae มีมากถึง 18 สกุล 51 ชนิด

แมลงกินได้มีปริมาณสูงสุดในเดือนพฤษภาคม ซึ่งอยู่ในช่วงต้นฤดูฝน ส่วนเดือนกันยายน ตุลาคม และธันวาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาวพบปริมาณน้อย และพบแมลงอันดับ Isoptera มีปริมาณมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ อันดับ Coleoptera, Hemiptera, Orthoptera, Hymenoptera, Odonata, Lepidoptera และ Homoptera (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 3. แมลงกินได้ที่พบจากบ้านสงเปือย บ้านโนนเรือง และบ้านราชการ อ.เมือง จ.ขอนแก่น การติดตามและเก็บตัวอย่าง ประชากร ระหว่างเดือนมกราคมถึงธันวาคม 2542

| อันดับ/วงศ์/ชื่อสามัญ | ชื่อท้องถิ่น | ชื่อวิทยาศาสตร์ | อันดับ/วงศ์/ชื่อสามัญ | ชื่อท้องถิ่น | ชื่อวิทยาศาสตร์ |
|---|---|---|---|---|---|
| **COLEOPTERA** | | | ด้วงดิ่ง | ตับเต่าน้อย | *Hydaticus rhantoides* Sharp* |
| **Buprestidae** | | | ด้วงดิ่ง | ตับเต่าน้อย | *Laccophilus pulicarius* Sharp* |
| แมลงทับ | แมงคับ | *Sternocera aequisignata* Saunders | ด้วงดิ่ง | ตับเต่าน้อย | *Copelatus* sp.* |
| | | | ด้วงดิ่ง | ตับเต่าน้อย | *Rhantaticus congestus* Klug* |
| แมลงทับ | แมงคับ | *S. ruficornis* Saunders | **Scarabaeidae** | | |
| **Cerambycidae** | | | ด้วงกว่าง | แมงคาม | *Xylotrupes gideon* Linnaeus |
| ด้วงหนวดยาว | แมงกอก | *Aeolesthus* sp.* | ด้วงแรด | แมงคาม | *Oryctes rhinoceros* Linnaeus* |
| ด้วงหนวดยาว | แมงกอก | *Apriona germai* Hope | แมลงกินูน | กินูน | *Adoretus* spp.* |
| ด้วงหนวดยาว | แมงแก | *Aristobia approximator* Thomson* | แมลงกินูน | กินูนเหลื่อมใหญ่ | *Agestrata orichalca* Linnaeus* |
| ด้วงหนวดยาว | แมงกอก แมงโพ | *Dorysthenes buqueti* Guerin* | แมลงกินูน | กินูนหลวง | *Anomala anguliceps* Arrow* |
| | | | แมลงกินูน | กินูนเหลื่อมเล็ก | *A. antique* Gyllenhal |
| ด้วงหนวดยาว | ด้วงงิ้ว | *Plocaederus obesus* Gahan | | | |
| ด้วงหนวดยาว | แมงกอก | *P. ruficornis* Newman* | แมลงกินูน | กินูนเหลื่อม | *A. chalcites* Sharp* |
| Curculionidae | | | แมลงกินูน | กินูนเหลื่อม | *A. cupripes* Hope |
| แมลงค่อมทอง, แมลงช้าง, ด้วงงวง | แมงช่าง | *Arrhines hirtus* Faust* | แมลงกินูน | กินูนเหลื่อม | *A. pallida* Fabricius* |
| | | | แมลงกินูน | กินูน | *Apogonia* sp.* |
| - | แมงช่าง | *Arrhines* spp. (2 sp.)* | แมลงกินูน | กินูนหลวง | *Chaetadoretus cribratus* White* |
| - | แมงช่าง | *Astycus gestvoi* Marshall* | แมลงกินูน | กินูนหลวง | *Holotrichia* spp. (2 sp.) |
| - | แมงช่าง | *Cnaphoscapus decoratus* Faust.* | แมลงกินูน | กินูน | *Maladera* sp.* |
| - | แมงช่าง | *Episomus* sp. | แมลงกินูน | กินูน | *Pachnessa* sp.* |
| - | แมงช่าง | Genus near *Deiradorrhinus** | แมลงกินูน | กินูน | *Protaetia* sp.* |
| - | แมงช่าง | *Hypomesus squamosus* Fabricius | แมลงกินูน | กินูนน้อย | *Sophrops absceussus* Brenske* |
| - | แมงช่าง | *Pollendera atomaria* Motschulsky* | แมลงกินูน | กินูนน้อย | *S. bituberculatus* Moser* |
| | | | แมลงกินูน | กินูนน้อย | *S. rotundicollis* T.Ihto* |
| - | แมงช่าง | *Sepiomus aurivilliusi* Faust.* | แมลงกินูน | กินูนน้อย | *Sophrops* spp. (2 sp.)* |
| - | แมงช่าง | *Tanymeces* sp.* | แมลงกินูน | กินูนน้อย | *Sophrops* species mean *abscessus* Brenske* |
| - | แมงช่าง | *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier | แมลงกินูน | กินูนน้อย | *Tribe Sericini* (7 spp.) |
| **Hydrophillidae** | | | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่น้อย | *Aphodius (Pharaphodius) crenatus* Harold* |
| แมลงเหนี่ยง | แมงเหนี่ยง | *Hydrobiomorpha spinicollis* Eschscholtz* | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่น้อย | *A.(Pharaphodius) marginellus* Fabricius* |
| แมลงเหนี่ยง | ตับเต่าน้อย | *Hydrophilus bilineatus* Redtenbacher* | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่น้อย | *A. (Pharaphodius) putearius* Reitter* |
| แมลงเหนี่ยง | ตับเต่าน้อย | *Stemolophus rufipes* Fabricius* | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่น้อย | *A. (Pharaphodius)* sp.* |
| **Dytiscidae** | | | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *Cathasius birmanicus* Lansberge* |
| ด้วงน้ำ | แมงข้าวสาร | *Erectes stiticus* Linnaeus | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ขี้ | *C. molussus* Linnaeus* |
| ด้วงดิ่ง | แมงตับเต่า แมงกิเต่า | *Cybister tripunctatus asiaticus* Sharp* | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *Copris (s.str.) carinicus* Gillet* |
| ด้วงดิ่ง | แมงตับเต่า แมงกิเต่า | *C. limbatus* Fabricius | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่เขา | *C. (s.str.) nevinsoni* Waterhouse* |
| ด้วงดิ่ง | แมงตับเต่า แมงกิเต่า | *C. rugosus* MacLeay | ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *C. (Paracopris) punctulatus* Gillet* |

ตารางที่ 3. (ต่อ)

| อันดับ/วงศ์/ชื่อสามัญ | ชื่อท้องถิ่น | ชื่อวิทยาศาสตร์ |
|---|---|---|
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *C. (Microcopris) reflexus* Fabricius* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *C. (Paracopris)* sp.* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่เบ้าน้อย | *Gymnopleurus melanarius* Harold* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่เบ้า | *Heliocopris bucephalus* Fabricius |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *Heteronychus lioderes* Redtenbacher* |
| ด้วงมูลสัตว์ | *กุดจี่* | *Liatongus (Paraliatongus) rhadamitus Fabricius** |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *Onitis niger* Lansberge* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่หมุ่ม | *O. subopagus* Arrow |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *Onthophagus orientalis* Horold* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *O. avocetta* Arrow* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ทอง | *O. bonasus* Fabricius* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *O. khonmiinitnoi* Masumoto* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *O. papulatus* Boucomont* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่หวาย | *O. sagittarius* Fabricius* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่หวาย | *O. seniculus* Fabricius |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *O. tragoides* Boncomont* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *O. tragus* Fabricius* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่หวาย | *O. tricornis* Wiedemannn* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *O. trituber* Wiedemannnn* |
| ด้วงมูลสัตว์ | กุดจี่ | *Onthophagus* sp. |
| **HEMIPTERA** | | |
| **Belostomatidae** | | |
| แมลงดาสวน | แมงไข่ใส่หลัง แมงหลังไข่ | *Diplonychus* sp. |
| แมลงดานา | แมงดา | *Lethocerus indicus* Lepeletier&Sepville |
| **Coreidae** | | |
| มวนนักกล้าม | แมงแคงขาโป้ | *Anoplocnemis phasiana* Fabricius* |
| มวนลำใย | แมงแคง | *Homoeocerus* sp.* |
| **Nepidae** | | |
| มวนแมงป่องน้ำ | แมงคันโซ่ แมงสีเสียด | *Laccotrephes ruber* Linnaeus |
| มวนแมงป่องน้ำ | แมงคันโซ่ แมงสีเสียด | *Ranatra longipes thai* Lansbury* |
| มวนแมงป่องน้ำ | แมงคันโซ่ แมงสีเสียด | *R. varripes* Stal* |
| **Notonectidae** | | |
| มวนวน | แมงหัวควาย | *Anisops barbutus* Brooks* |
| มวนวน | แมงหัวควาย | *A. bouvieri* Kirkaldy* |
| **Tessaratomidae** | | |
| มวนลำใย | แมงแคงเล็ก | *Pygopalty* sp.* |
| มวนลำใย | แมงแคงค้อ | *Tessaratoma papillosa* Drury |
| มวนลำใย | แมงแคงค้อ | *T. javanica* Thunberg |
| **Gerridae** | | |
| จิงโจ้น้ำ | จิงโจ้น้ำ | *Cylindrostethus scrutator* Kirkaldy* |
| **ODONATA** | | |
| **Aeshnidae** | | |
| ตัวอ่อนแมลงปอยักษ์ | แมงโป้งเป้ง | *Aeshna* sp. |
| **Corduliidae** | | |
| ตัวอ่อนแมลงปอ | แมงละงำ | Epophtalmia vittigera bellicosa Lieftinck* |
| **Coenagrionidae** | | |
| ตัวอ่อนแมลงปอเข็ม | แมงละงำ | *Ceriagrion* sp. |
| **Libellulidae** | | |
| ตัวอ่อนแมลงปอบ้าน | แมงละงำ | *Rhyothemis* sp. |
| **HYMENOPTERA** | | |
| **Apidae** | | |
| ผึ้ง | ผึ้ง | *Apis dorsata* Fabricius |
| ผึ้งมิ้ม | มิ้ม | *A. florea* Fabricius |
| **Vespidae** | | |
| ต่อ | ต่อ | *Vespa affinis indosinensis* Perez* |
| **Formicidae** | | |
| มดแดง, ไข่มดแดง, แม่เป้ง | เรียก เหมือนกัน | *Oecophylla smaragdina* Fabricius |
| มดแมลงมัน | มดแมงมัน | *Carebara castanea* Smith |
| **ORTHOPTERA** | | |
| **Acrididae** | | |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตนง้าว | *Acrida cinerea* Thunberg* |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตนง้าว | *Acrida* sp. |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตน | *Chondacris rosea* DeGeer |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตน | *Chortippus* sp.* |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตน | *Cyrtacanthacris tatarica* Linnaeus |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตนอีไทย, อีแท่ด | *Ducetia japonica* Thunberg* |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตนอีบน | *Locusta migratoria* Linnaeus |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตนผี | *Mecopoda elongata* Linnaeus |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตน | *Oxya* sp. |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตน | *Parapleurus* sp.* |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตนโม | *Patanga japonica* Bolivar |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ปาทังก้า | *P. succincta* Linnaeus |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตนคอกั่น | *Shirakiacris* shirakii* |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตนขี้หมา | *Trilophidia annulata* Thunberg* |
| **Aractomorphidae** | | |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตน | *Atractomorpha* sp.* |
| **Catantopidae** | | |
| ตั๊กแตนหนวดสั้น | ตั๊กแตน | *Ratanga avis* Rehn et Rehn* |
| **Gryllidae** | | |
| จิ้งหรีด | กี้ดีด จิหลีด | *Teleogryllus testaceus* Walker* |
| จิ้งหรีด | จิหล่อ | *T. mitratrus* Burmeister* |
| จิ้งหรีด | กี้ดีด จิหลีด | *Teleogryllus* sp.* |
| จิ้งหรีด | จิโหลน | *Modicogryllus confirmatus* Walker* |
| จิโปม, จิ้งหรีดหางสั้น | จิโปม | *Brachytrupes portentosus* Lichtenstein |
| จิ้งหรีด | กี้ดีด จิหลีด | *Gryllus bimaculatus* Degeer |
| จิ้งหรีด | กี้ดีด จิหลีด | *Gryllus* sp.* |
| จิ้งหรีด | กี้ดีด จิหลีด | *Gymnogryllus* spp. (2 sp.)* |
| จิ้งหรีด | กี้ดีด จิหลีด | *Pteronemobius* sp.* |

ตารางที่ 3. (ต่อ)

| อันดับ/วงศ์/ชื่อสามัญ | ชื่อท้องถิ่น | ชื่อวิทยาศาสตร์ | อันดับ/วงศ์/ชื่อสามัญ | ชื่อท้องถิ่น | ชื่อวิทยาศาสตร์ |
|---|---|---|---|---|---|
| จิ้งหรีด | กี้ดีด จิหลีด | *Velarifictorus* sp.* | **ISOPTERA** | | |
| **Gryllotallpidae** | | | **Termestidae** | | |
| แมลงกระชอน | แมงกิชอน | *Gryllotalpa africana microphtalma* Chopard | แมลงเม่า | แมงเม่า | *Macrotermes gilvus* Hagen* |
| | | | **LEPIDOPTERA** | | |
| **Tettigoniidae** | | | **Bombycidae** | | |
| ตั๊กแตนหนวดยาว | แมงมัน | *Euconocephalus incertus* Walker | ดักแด้ไหม | ดักแด้ | *Bombyx mori* Linnaeus |
| ตั๊กแตนหนวดยาว | แมงมันน้อย | *Conocephalus maculatus* LeGuillou* | **Hesperidae** | | |
| | | | หนอนม้วนใบกล้วย | ขูลู | *Erionata thrax thrax* Linnaeus |
| ตั๊กแตนหนวดยาว | แมงมันน้อย | *Conocephalus* sp. | **Pyralidae** | | |
| **Mantidae** | | | หนอนเยื่อไผ่ | หนอนไผ่ | *Omphisa fuscidentalis* |
| ตั๊กแตนตำข้าว | แมงม้า แมงนบ | *Tenodera ariddifolia sinensis* Saussure | | หนอนรถด่วน | Hampson |
| | | | **HOMOPTERA** | | |
| ตั๊กแตนตำข้าว | " | *Mantis religiosa* Linnaeus* | **Cicadidae** | | |
| ตั๊กแตนหนวดยาว | แมงมัน | *Onomachus* sp.* | จักจั่น | จักจั่น แมงอี | *Chremistica* sp.* |
| | แมงน้ำฝน | | จักจั่น | จักจั่น แมงอี | *Dundubia* sp. |
| ตั๊กแตนหนวดยาว | แมงโหย่งโย่ | *Pseudophyllus titan* White* | จักจั่น | จักจั่น แมงอี | *Orientopsaltria* sp. |
| ตั๊กแตนหนวดยาว | แมงมัน | *Homeoxipha* sp.* | จักจั่น | จักจั่น แมงอี | *Platylomia* sp.* |
| **Tettigidae** | | | | | |
| ตั๊กแตนแคระ | ตั๊กแตนน้อย | *Euparatettix* sp.* | | | |

## ภูมิปัญญาท้องถิ่นที่เกี่ยวข้องกับแมลงกินได้

### *การจับแมลงกินได้*

ส่วนใหญ่นำอุปกรณ์ที่ใช้ในชีวิตประจำวัน หรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการประกอบอาชีพมาดัดแปลงใช้จับแมลง เช่น การจับแมลงที่อาศัยอยู่ในน้ำ ใช้อุปกรณ์สำหรับจับปลา ได้แก่ สวิง ตาข่าย แหย่ง อวน ไซ โพงพาง หรืออุปกรณ์อย่างอื่นที่สามารถใช้ช้อนหรือดักจับแมลงได้ จับได้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย การจับแมลงที่อาศัยอยู่บนบก การเลือกใช้อุปกรณ์และวิธีการจับขึ้นอยู่กับขนาด วัย แหล่งอาศัย และพฤติกรรมของแมลง คือ ถ้าแมลงมีขนาดใหญ่ก็ใช้มือจับ สวิง โฉบ ใช้ไม้ที่สานเป็นตะแกรง/ตาข่าย ตี/ตะปบ ไม้สอย ใช้ถุงพลาสติกครอบ ใช้สารเหนียวต่างๆ เช่น ยางไม้ กาวทาปลายไม้ (ตังติด) แล้วแตะตัวแมลง จับโดยการเขย่าต้นไม้ให้แมลงร่วงลงดินแล้วเก็บ ใช้มือหรือขวาน ตะกร้าหรือถังพลาสติกสอย สำหรับการจับแมลงพวกผึ้ง ต่อ แตน และผึ้งมิ้ม มักใช้วิธีการรมควันเพื่อไล่ตัวเต็มวัยแล้วจึงใช้มือตัดเอารัง การจับแมลงที่อาศัยอยู่ในดิน จับโดยการใช้จอบ เสียม หรืออุปกรณ์อย่างอื่นขุด ส่วนแมลงกระชอนซึ่งมักอาศัยอยู่ตามที่ชื้นแฉะ จับโดยการไขน้ำเข้าให้ท่วมพื้นที่แล้วเดินย่ำ แมลงก็จะออกจากรูจับได้ง่าย แต่โดยทั่วไปในปัจจุบันนี้นิยมจับแมลงกินได้โดยการใช้กับดักแสงไฟ เป็นวิธีที่สะดวก สามารถจับแมลงได้ปริมาณมากและหลากหลายชนิด แต่จะจับได้เฉพาะตัวเต็มวัยของแมลงเท่านั้น

### *การจำแนกแมลงกินได้*

การเรียกชื่อแมลงหรือที่มาของชื่อท้องถิ่นแมลงกินได้แตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ ขึ้นอยู่กับขนาดของลำตัว วัย และสถานที่พบ เช่น การแยกชนิดแมลงตามสี เช่น แมลงกินูน แบ่งออกเป็น กินูนเขียว กินูนเหลือม กินูนหม่น ด้วงมูลสัตว์ ได้แก่ กุดจี่ทอง การแยกชนิดแมลงตามขนาด เช่น แมลงกินูน แบ่งออกเป็น กินูนใหญ่ กินูนกลาง กินูนน้อย ตั๊กแตน แบ่งออกเป็น ตั๊กแตนใหญ่ ตั๊กแตนเล็ก การแยกชนิดแมลงตามลักษณะ เช่น ด้วงมูลสัตว์ที่มีเขาเรียกว่า กุดจี่เขา ด้วงมูลสัตว์ที่อยู่ในก้อนมูลเรียกว่า กุดจี่เบ้า มวนนักกล้าม ซึ่ง femur ขาคู่หลังขยายใหญ่เรียกว่า แมงแคงขาโป้ หมายถึงขาใหญ่ ตั๊กแตนตำข้าวเรียกว่า แมงนบ เพราะขาคู่หน้ามักยกชี้ขึ้นพร้อมกันคล้ายกับลักษณะการพนมมือไหว้ (คำว่า นบ ในภาษาอีสานแปลว่าไหว้) การแยกชนิดแมลงตามสถานที่พบ เช่น ด้วงหนวดยาว ถ้าพบบนต้นมะกอกเรียกว่า แมงกอก ถ้าพบบนต้นมะม่วงเรียกว่า แมงม่วง หรือมวนลำใยที่พบตามต้นค้อ จึงเรียกว่า แมงแคงค้อ การแยกชนิดแมลงตามวัย เช่น ด้วงดิ่ง เรียกตัวอ่อนว่า แมงอีด หรือแมงก้องแขน หรือแมงกังแขน เรียกตัวเต็มวัยว่า แมงตับเต่า หรือแมงกิเต่า

***กรรมวิธีในการรับประทานแมลง***

การรับประทานและกรรมวิธีในการปรุงอาหารจากแมลงนั้น นอกจากขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดตัวแมลงแล้ว ส่วนหนึ่งยังขึ้นอยู่กับปริมาณที่หาได้แต่ละครั้ง ถ้าแมลงมีขนาดใหญ่และหาได้ปริมาณมากอาจใช้วิธี ปิ้ง คั่ว จี่ เผา และทอด แล้วกินกันเป็นตัวๆ เช่น แมลงดานา ด้วงดิ่ง แมลงเหนี่ยง ตั๊กแตน ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของด้วงหนวดยาว แมลงทับ จักจั่น แมลงกินูน ด้วงมูลสัตว์ หนอนม้วนใบกล้วย ฯลฯ หรือนำไปปรุงเป็น ลาบ ก้อย ยำหรือหมก เช่น ตั๊กแตน แมลงกินูน ด้วงมูลสัตว์ ไข่มดแดง จักจั่น ฯลฯ แต่ถ้าหาได้ปริมาณน้อยก็จะใช้วิธี ปั่น (น้ำพริก) เช่น แมลงดานา มวนลำใย มวนนักกล้าม แมลงกินูน จักจั่น ตัวอ่อนแมลงปอ ฯลฯ แกงหรืออ่อมใส่ผักต่างๆ เช่น ตั๊กแตน ด้วงมูลสัตว์ ตัวอ่อนแมลงปอ ตัวอ่อนด้วงดิ่ง ไข่มดแดง ฯลฯ ถ้าเป็นแมลงที่มีขนาดเล็กและหาได้ปริมาณมากก็จะหมักเป็นจ่อมหรือปลาร้าเก็บไว้ เป็นกรรมวิธีการถนอมอาหารอีกประเภทหนึ่ง แมลงบางชนิดนำไปปรุงเป็นอาหารรับประทานเล่น เช่น เมี่ยงมดแดง โดยนำตัวมดแดง (มดงาน) ไปคั่วแล้วรับประทานกับน้ำพริกปลาร้าและผักสดชนิดต่างๆ ส่วนเคล็ดลับในการเตรียมแมลงก่อนปรุงและการปรุงอาหารจากแมลง ได้รับการสืบทอดต่อกันมาตั้งแต่บรรพบุรุษ เช่น ด้วงมูลสัตว์ ซึ่งอาศัยอยู่ใต้กองมูล ต้องขังทิ้งไว้ระยะหนึ่งเป็นเวลาหลายชั่วโมงหรือข้ามคืน เพื่อให้แมลงขับถ่ายสิ่งโสโครกออก แล้วนำไปล้างน้ำให้สะอาดก่อนปรุงเป็นอาหาร ถ้าแมลงที่มีส่วนลำตัวแข็งหรือมีหนามก็จะเด็ดส่วนแข็งเหล่านั้นทิ้งก่อนปรุง ถ้าเป็นแมลงที่ต้องการกลิ่นหรือเพื่อเป็นเครื่องปรุงรส เช่น แมลงดานา จะนิยมใช้เฉพาะเพศผู้ที่มีกลิ่นหอมกว่า ทำให้มีราคาแพงกว่าเพศเมีย ส่วนเพศเมียนิยมนำไปปรุงเป็นอาหารอย่างอื่นที่ไม่ต้องการกลิ่น เป็นต้น

**การศึกษาเซลล์ล์พันธุศาสตร์ของจิโปมสกุล *Brachytrupes***

โดยการศึกษาไมโตติกคาริโอไทป์ของจิโปมในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ได้แก่ จ.สกลนคร และอุดรธานี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนกลาง ได้แก่ จ.ขอนแก่น และมหาสารคาม และภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนใต้ ได้แก่ จ.ศรีสะเกษ อุบลราชธานี และนครราชสีมา ด้วยการแยก ตรวจนับจำนวนโครโมโซม และจัดทำคาริโอไทป์ ที่เตรียมโครโมโซมจากระบบทางเดินอาหาร คือ ถุงน้ำย่อย (hapatic caeca หรือ gasgric caeca) โดยเทคนิคที่ดัดแปลงจากวิธี hypotonic-fixation-air-drying ใช้หลักการการทำลายเส้นใยสปินเดิล (spindle fibre) ด้วยโคลชิซีน (colchicine) ทำให้เซลล์ล์บวมด้วยสารละลายฮัยโปโทนิค (hypotonic) ทำให้เซลล์ล์คงสภาพด้วยสารละลายฟิกเซทีฟ (fixative) ทำให้เซลล์ล์แตกออกเพื่อให้โครโมโซมกระจายบนสไลด์ แล้วย้อมสีแบบดั้งเดิม (conventional staining หรือ solid staining) ด้วยสีจิมซา (Giemsa) นับเซลล์ล์ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันตั้งแต่ 4-36 เซลล์ล์ พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n อยู่ระหว่าง 9-16 และทั้งหมดมีรูปแบบคาริโอไทป์เป็นแบบอะซิมเมตทริคเหมือนกัน จิโปมเพศเมียจากทั้ง 3 พื้นที่ ยกเว้น จ.นครราชสีมา มีชนิดและจำนวนโครโมโซมเหมือนกันคือ 2n=12 มีชนิดโครโมโซมเป็นแบบเมตาเซนทริคขนาดใหญ่จำนวน 4 คู่ แบบเมตาเซนทริคขนาดกลางจำนวน 1 คู่ และแบบทีโลเซนทริคขนาดเล็กจำนวน 1 คู่ มีคาริโอไทป์ที่มีสูตรดังนี้คือ $L_8^m+M_2^m+S_2^t$ ส่วนจิโปมเพศเมียจาก จ.นครราชสีมา พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=16 โดยมีโครโมโซมแท่งเล็กๆ ที่มีรูปร่างไม่ชัดเจนเพิ่มขึ้นมาอีก 2 คู่ และพบว่ามีโครโมโซมชนิดเมตาเซนทริคขนาดใหญ่จำนวน 4 คู่ และเมตาเซนทริคขนาดกลางจำนวน 1 คู่ เช่นเดียวกับแมลงจากแหล่งอื่น ต่างกันที่มีโครโมโซมชนิดทีโลเซนทริคขนาดเล็กถึง 3 คู่ จิโปมเพศเมียทั้งหมดมีรูปแบบโครโมโซมเพศเป็น XX และเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 เหมือนกัน สำหรับจิโปมเพศผู้พบว่ามีจำนวนโครโมโซมและรูปแบบคาริโอไทป์ 3 ลักษณะ ได้แก่ จิโปมจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนมีจำนวนโครโมโซม 2n=9 มีสูตรคาริโอไทป์ 2 แบบ คือ จิโปมจาก จ.อุดรธานี มีสูตรคาริโอไทป์ คือ $L_1^m+M_6^m+S_2^t$ ส่วนจิโปมจาก จ.สกลนคร มีสูตรคาริโอไทป์ คือ $L_5^m+M_2^m+S_2^t$ ซึ่งแตกต่างจากจิโปมจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนกลางที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=10 มีสูตรคาริโอไทป์เหมือนกัน คือ $L_6^m+M_2^m+S_2^t$ และจิโปมจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนใต้ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=12 และมีสูตรคาริโอไทป์ $L_7^m+M_2^m+S_3^t$ จิโปมเพศผู้จากทั้ง 3 พื้นที่มีจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ต่างกัน รวมทั้งมีรูปแบบของโครโมโซมเพศแตกต่างกันด้วย คือ เป็นแบบ XO, ZZ และ XY แต่ทั้งหมดเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 เหมือนกัน

## บทสรุป

***ความหลากหลายชนิดของแมลงกินได้***

จากการสำรวจข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับแมลงกินได้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยการใช้แบบสอบถามปี 2542 มีแมลงกินได้จากชื่อท้องถิ่นจำนวน 62 ชนิด แมลงที่มีผู้ตอบสูงสุด 3 อันดับแรก คือ แมลงดานา ด้วงดิ่ง (รวมแมลงเหนี่ยง) และไข่มดแดง คิดเป็นร้อยละ 99.05, 94.11 และ 93.73 ของผู้ตอบแบบสอบถามตามลำดับ เช่นเดียวกับ วรากรและคณะ (2518) ที่พบว่า ทั้งแมลงดานาและด้วงดิ่งเป็นแมลงที่นิยมบริโภคสูงถึงร้อยละ 100 และพบว่ามีแมลงกินได้จำนวน 14 ชนิด ที่ปัจจุบันนี้เป็นแมลงที่พบในปริมาณน้อยหรือไม่พบเลยในบางท้องถิ่น แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการบริโภคแมลงของคนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรืออาจเนื่องมาจากเกิดการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของแมลง (ประพิมพร และคณะ 2529) ส่วนนางพญาปลวกมีผู้ตอบว่ารับประทานได้น้อยที่สุดเพียงร้อยละ 0.57 ชี้ให้เห็นว่านางพญาปลวกอาจเป็นแมลงที่นิยมบริโภคในบางพื้นที่เท่านั้น สำหรับแมลงบางชนิด เช่น หนอนเยื่อไผ่ ก็พบว่ามีความนิยมบริโภคน้อยเช่นกัน คือ มีผู้ตอบเพียงร้อยละ 17.30 เท่านั้น ในขณะที่ Utsunomiya and Masumoto (1999) พบว่าในภาคเหนือมีผู้นิยมบริโภคมากถึงร้อยละ 82.5 การที่ภาคเหนือพบผู้บริโภคหนอนเยื่อไผ่มาก อาจเนื่องมาจากสภาพพื้นที่ของภาคเหนือยังคงมีป่าไผ่มากกว่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จึงทำให้มีโอกาสพบหนอนเยื่อไผ่มากกว่าก็เป็นได้ แมลงกินได้ส่วนใหญ่พบมากทั้งชนิดและปริมาณในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม คิดเป็นร้อยละ 21 ถึง 30 ของผู้ตอบแบบสอบถาม พบแมลงกินได้ตามแหล่งอาศัยต่างๆ เช่น ทุ่งนา แปลงเกษตร ป่าไม้ แหล่งเพาะเลี้ยง และแหล่งน้ำต่างๆ เช่นเดียวกับการศึกษาของ ประพิมพร และคณะ (2529) ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำฝนเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลอย่างยิ่งต่อความอุดมสมบูรณ์และปริมาณแมลง

การรับประทานแมลงส่วนใหญ่ผ่านการปรุงสุก ซึ่งช่วยให้ปลอดภัยจากปรสิตและสารพิษบางชนิดที่ติดมากับแมลง (นิภา และอุรุญากร, 2540; เพ็ญนภา และกัญจนา, 2542; Vane-Wright, 1991) โดยปรุงเป็นอาหารพื้นเมืองชนิดต่างๆ จารุวรรณ และคณะ (2540); กัณฑ์วีร์ (2542) พบว่า การปรุงอาหารจากแมลงของคนอีสานส่วนใหญ่จะปรุงเป็นอาหารพื้นเมือง การรับประทานแมลงนอกจากมีรสชาติอร่อย (ร้อยละ 74.33) และเป็นอาหารว่างได้แล้ว แมลงบางชนิดเชื่อว่ามีสรรพคุณทางยาสามารถใช้แทนยารักษาโรคได้ (เพ็ญนภา และกัญจนา, 2542) นอกจากนี้ การใช้แมลงเป็นอาหารยังเป็นการช่วยกำจัดศัตรูพืชในทางอ้อมได้อีกด้วย เมื่อเกิดการระบาดของแมลงบางชนิด เช่น ตั๊กแตน แมลงนูน หลวง ด้วงหนวดยาวอ้อย ด้วงงวงมะพร้าว ด้วงเจาะไม้ไผ่ หนอนไผ่ ฯลฯ พบว่าเมื่อมีการจับแมลงเหล่านี้กินเป็นอาหารจะช่วยลดปริมาณการระบาดลงได้มาก เป็นการกำจัดวิธีหนึ่งที่ได้ผลดี และยังเป็นอาชีพเสริมที่ทำรายได้ดีแก่เกษตรกรอีกทางหนึ่งด้วย (สมหมาย, 2536)

จากชื่อท้องถิ่นของแมลงกินได้ ที่พบจากการสำรวจแมลงกินได้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยการใช้แบบสอบถามนั้น จะเห็นว่าชื่อท้องถิ่นดังกล่าวไม่สามารถบอกได้ว่าแมลงเหล่านั้นเป็นแมลงสปีชีส์ใด และมีจำนวนสปีชีส์เท่าใด จึงได้ทำการศึกษาโดยการติดตามประชากรแมลง เพื่อให้สามารถจำแนกชื่อแมลงกินได้ชนิดต่างๆ ได้

การติดตามและเก็บรวบรวมประชากรแมลงกินได้ใน 3 หมู่บ้านของ อ.เมือง จ.ขอนแก่น จัดจำแนกชนิดตามระบบอนุกรมวิธานแมลงได้จำนวน 158 ชนิด (species) จะเห็นได้ว่า แม้จะติดตามประชากรแมลงกินได้ในพื้นที่เพียง 3 หมู่บ้าน ของ อ.เมือง จ.ขอนแก่น เท่านั้น แต่สามารถพบจำนวนชนิดแมลงกินได้เป็นจำนวนมาก แมลงดังกล่าวทราบชื่อแล้วจำนวน 107 ชนิด อีก 51 ชนิดยังไม่ทราบชื่อ ซึ่งในจำนวนนี้คาดว่าจะมีแมลงสปีชีส์ใหม่อีกหลายชนิด โดยพบแมลงกินได้ใน

ตารางที่ 4. ตัวอย่างแมลงกินได้ที่มีความแตกต่างกันของจำนวนชนิดตามชื่อท้องถิ่นและชื่อวิทยาศาสตร์

| แมลง | จำนวนชนิดตามชื่อท้องถิ่น (ชนิด) | จำนวนชนิดตามชื่อวิทยาศาสตร์ (species) |
|---|---|---|
| ด้วงมูลสัตว์ | 5 | 30 |
| แมลงกินูน | 4 | 27 |
| ตั๊กแตน | 11 | 23 |
| แมลงค่อมทอง | 1 | 12 |
| จิ้งหรีด | 5 | 10 |

อันดับ Coleoptera มีจำนวนมากที่สุดถึง 89 ชนิด การที่พบแมลงในอันดับนี้มากนั้น เนื่องจากโดยปกติแล้วแมลงอันดับนี้มีความหลากหลายทั้งชนิดและแหล่งที่อยู่อาศัยมากกว่าแมลงอันดับอื่นๆ (Romoser, 1998) ซึ่งจากอันดับ Coleoptera นั้นพบว่า ด้วงในวงศ์ Scarabaeidae มีมากที่สุดจำนวน 58 ชนิด โดย Utsunomiya and Masumoto (1999) ก็พบเช่นเดียวกันว่า ด้วงที่เป็นอาหารของคนในภาคเหนือเป็นด้วงในวงศ์นี้จำนวน 58 ชนิด และจากการศึกษาครั้งนี้พบจำนวนชนิดแมลงกินได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานที่ตรวจพบในประเทศไทยจากการศึกษาในครั้งนี้

จะเห็นได้ว่า จากการจำแนกชนิดตามหลักวิทยาศาสตร์ของแมลงกินได้ที่ได้จากการติดตามประชากรแมลงแล้วพบว่าแมลงบางกลุ่มที่มีจำนวนชนิดตามชื่อท้องถิ่นเพียงไม่กี่ชื่อนั้นกลับมีจำนวนชนิดตามระบบอนุกรมวิธานแมลงเป็นจำนวนมาก ดังตัวอย่างแมลงตามตารางที่ 4

***ภูมิปัญญาท้องถิ่นบางประการเกี่ยวกับแมลงกินได้***

โดยทั่วไปแล้วพบว่า ชาวอีสานมีการสืบทอดภูมิปัญญาท้องถิ่นเกี่ยวกับแมลงกินได้ในแง่มุมต่างๆ มากมาย ซึ่งวิธีการถ่ายทอดความรู้จากรุ่นหนึ่งสู่อีกรุ่นหนึ่งจะเกี่ยวพันกับวิถีชีวิตจนไม่อาจจะแยกออกจากกันได้ (เจริญ, 2532) จากผลสรุปจากแบบสอบถามที่มีผู้ตอบจากทุกจังหวัดของภาคนี้ เป็นเครื่องยืนยันหรือเป็นตัวชี้วัดสำคัญประการหนึ่งว่า คนอีสานต่างก็รู้จักแมลงกินได้กันเป็นอย่างดี ดังนั้น จึงถือได้ว่าแมลงเป็นอาหารที่นิยมของคนทั่วไป และยิ่งไปกว่านั้นการรู้จักแยกว่าแมลงชนิดใดกินได้หรือกินไม่ได้ การดักจับหรือเสาะหาตามแหล่งอาศัย ตลอดจนการรู้จักนำมาปรุงด้วยกรรมวิธีต่างๆ ล้วนแล้วแต่เกิดจากการถ่ายทอดความรู้สืบต่อกันมาทั้งสิ้น (จารุวรรณ และคณะ, 2540; กัณฑ์วีร์, 2542) แม้ผู้ตอบแบบสอบถามบางคนอาจจะเรียกชื่อของแมลงบางชนิดแตกต่างกันออกไปบ้างตามแต่ละท้องถิ่น แต่ก็สามารถอธิบายลักษณะและการนำมาใช้ประโยชน์ได้ชัดเจนไม่ต่างกัน จะเห็นได้ว่าส่วนหนึ่งของการศึกษานี้สำเร็จได้โดยอาศัยภูมิปัญญาท้องถิ่น และทักษะความชำนาญของคนที่อยู่ในพื้นที่ทดลองมาสนับสนุนการทำงานเชิงวิชาการครั้งนี้เป็นสำคัญ

***การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์***

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของจิโปมสกุล *Brachytrupes* โดยการศึกษาไมโตติกคาริโอไทป์ นับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ตั้งแต่ 4-36 เซลล์ จิโปมที่ศึกษาทั้งหมดมีรูปแบบคาริโอไทป์เป็นแบบอะซิมเมทริค Cabrero and Camacho (1987) พบว่า แมลงอันดับ Orthoptera เช่น ตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Acrididae ส่วนใหญ่มีรูปแบบคาริโอไทป์เป็นแบบอะซิมเมทริค โดยลักษณะเซลล์พันธุศาสตร์ของจิโปมเพศเมียจากทั้ง 3 พื้นที่ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือยกเว้น จ.นครราชสีมา มีชนิดและจำนวนโครโมโซมเหมือนกัน คือ 2n=14+XX มีสูตรคาริโอไทป์ $L_8^m+M_2^m+S_2^t$ ซึ่งพวงผกา (2542), สิริพงษ์ และ สังวรณ์ (2542), Yoo et al. (1996) กล่าวไว้ว่า ส่วนใหญ่สิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันและมีรูปแบบคาริโอไทป์เหมือนกัน ส่วนจิโปมเพศเมียจาก จ.นครราชสีมา พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=16 มีสูตรคาริโอไทป์ $L_8^m+M_2^m+S_2^t$ โดยมีโครโมโซมแท่งเล็กๆ ที่มีรูปร่างไม่ชัดเจนเพิ่มขึ้นมาอีก 2 คู่ โดยมีโครโมโซมชนิดทีโลเซนทริคขนาดเล็กถึง 3 คู่ แต่จะเป็นจิโปมชนิดเดียวกับจิโปมจากพื้นที่อื่นหรือไม่นั้นยังไม่สามารถสรุปแน่ชัดได้ เนื่องจากศึกษาจากแมลงเพียงตัวเดียวและพบเซลล์ล์จำนวนน้อย คือ 4 เซลล์ เท่านั้น และอาจเป็นไปได้ว่าโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นนั้นเป็นโครโมโซมลักษณะพิเศษที่เรียกว่า “บีโครโมโซม” (B chromosome หรือ supernumerary chromosome) ซึ่งเป็นส่วนใดส่วนหนึ่งของโครโมโซมที่หลุดออกมา (Cabrero et al., 1986) เป็นลักษณะการเกิดวิวัฒนาการทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ที่เมื่อเวลาผ่านไปนานๆ แล้วสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นมีโอกาสที่จะเกิดเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ได้ สำหรับจิโปมเพศผู้ซึ่งพบว่ามีจำนวนโครโมโซมและรูปแบบคาริโอไทป์แตกต่างกัน 3 ลักษณะแล้ว ยังพบอีกว่าจิโปมจากแถบพื้นที่เดียวกัน แม้ว่าจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันแต่ปรากฏว่ามีชนิดโครโมโซมต่างกันทำให้มีคาริโอไทป์ต่างกัน ได้แก่ จิโปมจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=9 เท่ากัน แต่กลับมีสูตรคาริโอไทป์ต่างกัน โดยจิโปมจาก จ.อุดรธานี มีสูตรคาริโอไทป์ คือ $L_1^m+M_6^m+S_2^t$ แต่จิโปมจาก จ.สกลนครกลับมีสูตรคาริโอไทป์ คือ $L_5^m+M_2^m+S_2^t$ ซึ่งแตกต่างจากจิโปมจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนกลางที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=10 มีสูตรคาริโอไทป์ คือ $L_6^m+M_2^m+S_2^t$ และจิโปมจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนใต้ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=12 และมีสูตรคาริโอไทป์ $L_7^m+M_2^m+S_3^t$ เนื่องจากโครโมโซม Y มีลักษณะเป็นจุด (dot) จึงมีโครโมโซม

ชนิดทีโลเซนทริคขนาดเล็กเพิ่มขึ้นอีก 1 แท่ง ซึ่งกรณีนี้ Baimai et al. (1995) พบว่าโครโมโซมของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* complex ก็เกิดปรากฏการณ์ในทำนองนี้

จิโปมเพศเมียทั้งหมดมีรูปแบบโครโมโซมเพศเป็น XX และเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 เหมือนกัน ซึ่ง Lopez-Leon et al. (1992) พบว่า ส่วนใหญ่โครโมโซมเพศเมียของแมลงอันดับ Orthoptera เป็นแบบ XX และสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันส่วนใหญ่จะมีโครโมโซมเพศแบบเดียวกันและอยู่ในตำแหน่งเดียวกัน (Fox et al., 1985) ส่วนจิโปมเพศผู้จากทั้ง 3 พื้นที่ นอกจากจะมีจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ต่างกันแล้ว ยังมีรูปแบบของโครโมโซมเพศแตกต่างกันด้วย คือ เป็นแบบ XO, ZZ และ XY แต่ทั้งหมดเป็นโครโมโซมคู่ที่ 1 เหมือนกัน ซึ่ง Fox et al. (1985) กล่าวไว้ว่า สิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันส่วนใหญ่จะมีโครโมโซมเพศอยู่ในตำแหน่งเดียวกัน โดยโครโมโซมเพศแบบ XO นั้น พบเป็นส่วนใหญ่ในแมลงอันดับ Orthoptera (อำพา และคณะ, 2542; Lopez-Leon et al., 1992) โครโมโซมเพศแบบ XY นั้น Ray-Chauhuri and Manna (1950) พบครั้งแรกในจิ้งหรีด *Euscyrtus* sp. ส่วนโครโมโซมเพศแบบ ZZ นั้น ยังไม่มีรายงานว่าพบโครโมโซมเพศแบบนี้ในจิ้งหรีด แต่พบในแมลงอันดับ Lepidoptera และสัตว์อื่นๆ เช่น นก ปลา (ไพศาล, 2535)

สำหรับจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ที่พบหลากหลายนั้น มีโอกาสเกิดขึ้นได้เสมอในกลุ่มประชากรที่มีการผสมข้ามกัน Lim (1970) รายงานไว้ว่า ลูกผสมของจิ้งหรีดสกุล *Teleogryllus* จาก 3 กลุ่มประชากร พบสภาวะไม่ปกติของโครโมโซม คือ แต่ละประชากรมีโครโมโซมแตกต่างกันเนื่องจากการผสมข้ามกันไปมา และยังอ้างถึงรายงานของ Lim et al. (1969) ที่พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเซลล์วิทยาของจิ้งหรีด *Teleogryllus commodus* จากออสเตรเลียตะวันตกแตกต่างจากทางตะวันออกเฉียงใต้ของออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ ซึ่งความแตกต่างเหล่านี้ส่วนหนึ่งเกิดจากความแตกต่างของสภาพภูมิอากาศด้วย Lim (1973) พบว่า จำนวนโครโมโซมของแมลงวงศ์ Gryllidae มีความแปรปรวนอันเนื่องมาจากสาเหตุดังกล่าว ซึ่งความแปรปรวนเหล่านี้เกิดขึ้นในลักษณะทางจีโนไทป์ และผลจากการศึกษานี้พบว่า จิโปมมีความแปรปรวนทั้งจำนวนโครโมโซมและรูปแบบคาริโอไทป์ จึงจัดได้ว่าจิโปมสกุล *Brachytrupes* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นแมลงในกลุ่ม complex species และชี้ให้เห็นว่ามีแนวโน้มที่แมลงสกุลนี้จะมีจำนวนชนิดมากกว่า 1 ชนิด เท่าที่ได้รับการจัดจำแนกไว้ในประเทศไทยในปัจจุบันนี้ คือ ชนิด *portentosus* เนื่องจาก Matching species records (2000) รายงานไว้ว่า ในพื้นที่แถบอินโดนีเซีย และมาเลเซียนั้น พบว่า มีแมลงสกุลนี้จำนวน 3 ชนิด คือ *orientalis*, *terrificus* และ *portentosus* ซึ่งประเทศไทยก็เป็นพื้นที่ในแถบนี้เช่นเดียวกัน จึงเป็นไปได้ว่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนืออาจจะมีชนิดดังกล่าวของแมลงสกุลนี้เช่นกัน จะเห็นได้ว่าจำนวนโครโมโซมเพียงอย่างเดียวนั้นอาจใช้จำแนกชนิดในระดับสกุลได้ชัดเจน ส่วนคาริโอไทป์และลักษณะทางเซลล์พันธุศาสตร์อื่นๆ ที่มีลักษณะจำเพาะ เช่น constitutive heterochromatin และ marker ต่างๆ บนแท่งโครโมโซม (Cerro and Santos, 1995; Rodriguez-Imigo et al., 1996) สามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบในการจำแนกชนิดได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม การตรวจสอบชนิดของสิ่งมีชีวิตโดยเทคนิคทางเซลล์พันธุศาสตร์นั้น นอกจากจะใช้จำนวนโครโมโซมและรูปแบบคาริโอไทป์แล้ว ยังสามารถเลือกใช้เทคนิคและวิธีการที่มีการพัฒนามากกว่านี้ อาทิ การใช้เทคนิคการย้อมแถบโครโมโซมแบบต่างๆ เช่น C-banding, G- banding และ silver staining NOR ซึ่งจะช่วยให้สามารถจำแนกและตรวจสอบความแตกต่างของโครงสร้างโครโมโซมได้ชัดเจนยิ่งขึ้น (Fox et al., 1985) ดังนั้น จึงควรนำเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมมาใช้ในการศึกษาวิเคราะห์โครโมโซม เพื่อประโยชน์ในการจัดจำแนกแมลงสกุลนี้และแมลงอื่นๆ ต่อไป

การจำแนกชนิดของแมลงกินได้มีข้อจำกัดด้านแนวทางวินิจฉัยและตัวอย่างสำหรับเปรียบเทียบ ตั้งแต่ชื่อท้องถิ่นจนถึงชื่อวิทยาศาสตร์ เนื่องจากแมลงบางชนิดมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น หรือชื่อเดียวกันแต่ใช้เรียกแมลงต่างชนิดกัน และไม่มีใครสามารถยืนยันความถูกต้องได้เนื่องจากยังไม่มีการศึกษามาก่อน รวมทั้งชื่อวิทยาศาสตร์ก็เช่นกัน มีความยากลำบากในการจัดจำแนกเนื่องจากไม่มีแนวทางวินิจฉัยแมลงในประเทศไทย และมี specimen น้อยชนิดสำหรับเปรียบเทียบตัวอย่างแมลงที่ได้จากการศึกษา จึงควรมีการส่งเสริมและพัฒนางานและบุคลากรทางด้านนี้ให้มากขึ้น เพราะมีความจำเป็นต่อการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของแมลง นอกจากนี้ ควรมีการศึกษาคุณค่าทางเศรษฐกิจของแมลงกินได้ ตลอดจนส่งเสริมการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตเป็นการค้าหรือเป็นแหล่งอาหาร

โปรตีนของท้องถิ่น ซึ่งเป็นการเชื่อมโยงการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของแมลง รวมทั้งการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการอนุรักษ์แมลงกินได้บางชนิดที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์สูง เพื่อให้สามารถคงความหลากหลายของมวลชีวภาพในระบบนิเวศไว้ได้

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ 142012 และขอขอบคุณ Professor Dr. Kimio Masumoto และ ดร.องุ่น ลิ่ววานิช ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

กัณฑ์วีร์ วิวัฒน์พานิชย์. 2542. พฤติกรรมการบริโภคแมลง: การศึกษาทางมานุษยวิทยาโภชนาการ. วิทยานิพนธ์ปริญญาศิลปศาสตรมหาบัณฑิต หลักสูตรวัฒนธรรมศึกษา แขนงวัฒนธรรมสาธารณสุข สถาบันวิจัยภาษาและวัฒนธรรมเพื่อพัฒนาชนบท มหาวิทยาลัยมหิดล.

จารุวรรณ ธรรมวัตร, นรินทร์ พุดลา และอรอนงค์ รุทรเทวิน. 2540. วัฒนธรรมการบริโภคอาหารของชาวอีสาน: การสืบสารภูมิปัญญาและมรดกจากธรรมชาติ. รายงานการวิจัย โครงการส่งเสริมศักยภาพกลุ่มนักวิจัยอีสานคดี. อาศรมวิจัย คณะมนุษย์ศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. พิมพ์ครั้งที่ 2.

เจริญ ตันมหาพราน. 2532. แมลงอาหารจานเด็ดจากบรรพชน. สารคดี 5(53): 104-114.

ธนิต เฉลิมวัฒนชัย. 2538. แมลงอาหารที่มาแรง. อัพเดท 9(106): 91-93.

นฤมล แสงประดับ. 2525. สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่เป็นอาหารในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิภา เบญจพงศ์ และอุรุญากร จันทร์แสง. 2540. แมลงก็เป็นอาหารได้: เลือกกินอย่างไรจึงจะปลอดภัย. อาหาร 27(3): 168-174.

ประพิมพร สมนาแซง, ผการัตน์ รัฐเขตต์ และสุมาลี รัตนปัญญา. 2529. อาหารธรรมชาติของชาวบ้านในภาคตะวันออกเฉียงเหนือในฤดูหนาว. โครงการศึกษาภาวะเศรษฐกิจและสังคมของกสิกร ในระบบเกษตรน้ำฝน มหาวิทยาลัยขอนแก่น. โภชนาการสาร 12(1): 28-47.

พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง. 2542. โครงการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ "เซลล์พันธุศาสตร์" เรื่อง โครโมโซมและพันธุกรรมของพืช (Chromosome and Plant Heredity). ภาควิชาชีววิทยาและภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย.

พิทักษ์พงศ์ ป้อมปราณี, วิรัตน์ สุขีวงศ์, วิสูตร ปิ่นตบแต่ง, แผด สตารัตน์ และเบญจพร ดับโศรก. 2540. วัฒนธรรมพื้นบ้านในการบริโภคแมลง. *กำแพงแสนสัมพันธ์*.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ และกัญจนา ดีวิเศษ (บรรณาธิการ). 2542. แมลงอาหารมนุษย์ในอนาคต. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก กรุงเทพฯ.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2535. พันธุศาสตร์. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. บริษัทโรงพิมพ์วัฒนาพานิช จำกัด. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ.

วรากร วราอัศวปติ, จำนง วิสุทธิแพทย์ และชูเกียรติ มณีธร. 2518. แมลงที่เป็นอาหารในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. เอกสารงานวิจัย ฉบับที่ 7 มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ มหาสารคาม. โรงพิมพ์รุ่งเกียรติ ขอนแก่น.

วิสุทธิ์ ใบไม้. 2538. สถานภาพความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย (ตอนที่ 1). สารคดี 11(123): 115-124.

ศุภผล เทพเฉลิม. 2527. สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ใช้เป็นอาหารในภาคใต้ของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมหมาย ชื่นราม. 2536. ด้วงงวงเจาะหน่อไผ่. *หนังสือพิมพ์กสิกร* 66(5): 483-484.

สิริพงษ์ สิงหพงษ์ และสังวรณ์ กิจทวี. 2542. การศึกษาความหลากหลายของแตนเบียนศัตรแมลงวันผลไม้โดยการตรวจสอบโครโมโซม ใน: วิสุทธิ์ ใบไม้ และคณะ (บรรณาธิการ), รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย (research reports on Biodiversity in Thailand). จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. Workpress Printing กรุงเทพฯ: 549-570.

สุภาพ ณ นคร, ทัศนีย์ แจ่มจรรยา, พินิจ หวังสมนึก, ไพรัช ทาบสีแพร และญาดา พลแสน. 2542.ความหลากหลายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ใช้เป็นอาหารในเขต จ.ขอนแก่น ภาคตะวันออกเฉียงเหนือประเทศไทย. ใน: วิสุทธิ์ ใบไม้ และคณะ (บรรณาธิการ), รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย (research reports on Biodiversity in Thailand). จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. Workpress Printing กรุงเทพฯ: 366-371.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2540. แมลงกับวัฒนธรรมพื้นบ้าน. *วารสารกีฏและสัตววิทยา* 19(3): 1-2.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2531. แมลงกินได้. *กสิกร* 61(6): 547-553.

อำพา เหลืองภิรมย์, สุมนทิพย์ บุนนาค, อรอนงค์ กฤชเพชรรัตน์ และชวลิต กฤชเพชรรัตน์. 2542. การศึกษาเซลล์ล์พันธุศาสตร์ของสัตว์บางชนิดในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน ใน: วิสุทธิ์ ใบไม้ และคณะ (บรรณาธิการ), รายงานผลการวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย (Research Reports on Biodiversity in Thailand). จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. Workpress Printing กรุงเทพฯ: 563-570.

Baimai, V., W. Trinachartvanit, S. Tigvattananont, P.J. Grote, R. Poramarcom and U. Kijchalao. 1995. Metaphase karyotyps of fruit flies of Thailand. I. Five sibling species of the *Bactrocera dorsalis* Complex. *Genome* 38: 1015-1022.

Cabrero, J. and J. P. M. Camacho. 1987. Population cytogenetics of *Chorthippus vagan*. I. Polymorphisms pericentric invertion and for heterochromatin deletion. *Genome* 29: 280-284.

Cabrero, J., J. D. Alche and J. P. M. Camacho. 1986. Effect of B chromosome on the activity of nucleolar organizer regions in the grasshopper *Eyprepocnemis ploran* activity of lalent nucleolar organizer regions in the grasshopper fused to an autosome. *Genome* 29: 116-121.

Cerro, A. L. D. and J. L. Santos. 1995. Synapsis in grasshopper bivalents heterozygo for centric shifts. *Genome* 38: 616-622.

Fox, D. P., K. C. Carter and G. M. Hewitt. 1985. Giemsa banding and chiasma distribution in the desert locust. *Genetics* : 272-276.

Handa, S. M., O. P. Mittal and S. Sehgal. 1985. Cytology of Ten Species of Crickets from Chandigarh (India). *Cytologia* 50: 711-724.

Huang, Z. 1998. (1999 November, 4). Welcome to Huang's Bug-Eating Page. Bug-Eating Page. [Online] Available: URL: http://www.cyberbee.net/bugea/

Keninga. 1999. (November, 5). How to use insects as food. [Online] Available: URL: http://users.aol.com./keninga/inssects.ht/

Lim, H. C. 1970. Further cytological studies of Antipodean *Teleogryllus* species and their hybrids (Orthoptera: Gryllidae). *Canadian Journal of Zoology* 48: 523-527.

Lim, H. C., V. R. Vickery and D. K. M. Kevan. 1969. Cytological studies of Antipodean *Teleogryllus* species and their hybrids (Orthoptera: Gryllidae). *Canadian Journal of Zoology* 47: 189-196.

Lim, H. C. 1973. (abstract). Cytogenetics studies in relation to taxonomy within the family Gryllidae (Orthoptera). I. Subfamily Gryllinae. *Canadian Journal of Zoology* 51: 179-186.

Lopez-Leon, M. D., J. Cabero and J. P. M. Camacho. 1992. Male and female segregation distribution for heterochromatic supernumerary segments on the $S_8$ chromosome of the grasshopper *Chorthippus jacobsi. Chromosoma* 101: 511-516.

Manna, G. K. and T. K. Bhattacharjee. 1964. Studies of Gryllid Chromosomes. II. Chromosomal polymorphisms in *Pteronemobius taprobanensis* (Walk.), and chromosome morphology of *Loxoblemmus* sp. *Cytologia* 29: 196-206.

Matching species records. 2000. (August, 22). [serial online] Available: URL: http://viceroy.eeb.uconn.edu/odb/Grylloidea.qry?function=search&start=1/

Price, A. 1999. Edible Insects. (1999 November, 4, 2000 April, 28). [Online] Available: URL: http://www.eatbug.com/default.ht/

Ray-Cahudhuri, S. P. and G. K. Manna. 1950. Evidence of a mutiple chromosome mecahnism in a Gryllid. *The Journal of Heredity* 41: 277-280.

Rodriguez-Imigo, E., B. Fernandez-Calvin, J. Capel and C. Garcia-De-La-Veger. 1996. Equilocality and heterogeneity of constitutive heterochromatin; In situlocalization of two family of highly repititive DNA in *Dociostaurus genei* (Orthoptera). *Heridity* 76(1): 70-76.

Romoser, S. G. 1998. Introduction to Entomology. London.

Unger, L. 1999. (December, 5). Bugfood III : Insect Snacs from Around the World. [online] Available: URL: http://www.uky.edu/Ariculture/Entomology/ythfacts/bugfood/*yf813.h.*

Utsunomiya, Y. and K. Masumoto. 1999. Edible Beetles (Coleoptera) from Northern Thailand. Otsuma Women's Universiity. *Elytra* 27(1): 191-198.

Vane-Wright, R. I. 1991. Why not Eat Insects?. *Bulletin of Entomology Research* 81(1): 1-4.

Yoo, C. M., H. Y. Park, Y. B. Cho and S. E. Jeong. 1996. Karyological studies on Orthoptera from Korea. I. Karyotypes in eight species of Acrididae. *Korean Journal of Entomology* 26(1): 79-93.

# ความหลากหลายและวิวัฒนาการของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กในประเทศไทย

**เยาวลักษณ์ ชัยมณี**

ฝ่ายโบราณชีววิทยา กองธรณีวิทยา กรมทรัพยากรธรณี เขตราชเทวี กรุงเทพ 10400

## Abstract: Diversity and Evolution of Small Mammals in Thailand

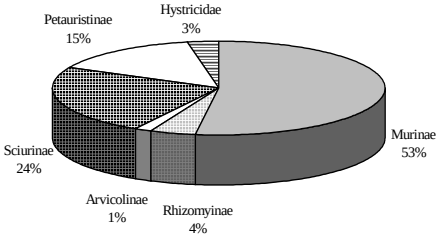
Caves and fissure fillings are the most suitable places for the accumulation of vertebrate fossil material. However, in most cases, the fossil concentration of bones is the result of predator activity, either small (owls) or large (carnivores), and in these cases, the fossil communities show an association of species well representative of the corresponding ecosystem. Therefore, to reconstruct the history of biodiversity and the processes of the deposits, the study of karstic fissures and cave fillings is the best approach. They are numerous and usually yield very abundant fossil microvertebrates, especially for the late Tertiary and the Quaternary periods. Additionally, preservation of bones is enhanced by the limited amount of weathering within caves and their alkaline environment. There are many caves in limestone mountains all over Thailand but Western Thailand especially the Kanchanaburi area provides an exceptionally high number of karstic fissures and caves. This area is also the most active area in Thailand for limestone mining, because of its proximity to Bangkok. Therefore, a detailed survey of limestone quarries of Kanchanaburi area provides the easiest way to find new localities rich in fossils. Small mammals are good indicators of the paleoenvironment and of paleoclimatic conditions because they are extremely dependent on vegetation cover. They are also easy to identify at the species level with the help of their teeth and on the basis of a comparative study with extant species. The fossil communities can include extinct species, species which show more primitive characters than the extant ones, extant species which had a different geographic distribution in the past and also numerous extant species. Therefore the study of the changes in species composition through the Plio-Pleistocene will provide important information not only concerning the origin and evolution of extant micromammal communities, but also the paleoenvironmental changes which were driving these changes. The study of karstic and cave micromammals is the most promising way to understand the history of biodiversity. Seven localities were discovered in this study. Thirty-five species of rodent were found. Of these, 5 species are new. These fossils show that the environment and climate changed through time from grassland mixed with forest at 3-4 million years ago to forest in the present day. The radiation of rodents is related to the development of forest.

**Key words**: Rodentia, Pliocene-Pleistocene, Paleoenvironment, Paleoclimate, mammal, cave

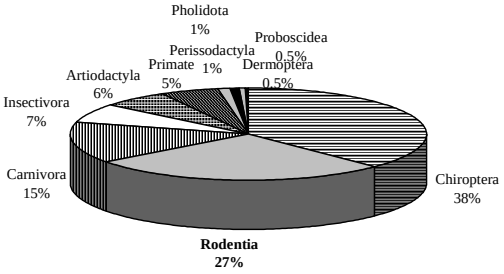
## บทนำ

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กในประเทศไทย มีความหลากหลายสูงคิดเป็น 71% ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหมด โดยแบ่งออกเป็นสัตว์จำพวกกัดแทะ (Rodentia) 27% ค้างคาว (Chioptera) 37% และสัตว์จำพวกกินแมลง (Insectivora) 7% (ภาพที่ 1) สัตว์เหล่านี้สามารถเป็นตัวบ่งชี้สภาพแวดล้อม และสภาพภูมิอากาศได้เป็นอย่างดี เนื่องจากมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม และสภาพอากาศ การศึกษาฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่สะสมอยู่ตามถ้ำและตามโพรงหินปูน เป็นวิธีที่ดีที่สุดที่ทำให้ทราบถึงความหลากหลายทางชีวภาพ และระบบนิเวศวิทยาในอดีต ฟอสซิลเหล่านี้ส่วนใหญ่เกิดจากการสะสมตัวจากสิ่งสำรอกของนกเค้าแมว หรือจากมูลสัตว์กินเนื้อขนาดเล็ก ที่มักล่าเหยื่อขนาดเล็กเป็นอาหาร

ในจำพวกสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหมด สัตว์กัดแทะมีความหลากหลายชนิดสูง และแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว มีประมาณ 30 สกุล (genera) 67 ชนิด (species) แบ่งเป็น 3 ตระกูล ได้แก่ หนู (Muridae) กระรอก (Sciuridae) และเม่น (Hystricidae) โดยเป็นหนูถึง 58% กระรอก 39% และเม่น 3% สัตว์ตระกูลหนู (Muridae) แบ่งออกได้ 3 ตระกูลย่อย ได้แก่ หนู (Murinae) 35 ชนิด หนูน้ำ (Avicolinae) 1 ชนิด และอัน (Rhizomyinae) 3 ชนิด สัตว์ตระกูลกระรอก (Sciuridae) แบ่งเป็น 2 ตระกูลย่อย ได้แก่ กระรอกบิน (Petauristinae) 10 ชนิด และกระรอก (Sciurinae) 16 ชนิด ส่วนเม่น (Hystricidae) มีเพียง 2 ชนิดเท่านั้น (Musser and Carleton, 1993) (Corbet and Hill, 1992) และ (Lekagul and




ภาพที่ 1. ไดอะแกรมแสดงสัดส่วนของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมใน ประเทศไทย




ภาพที่ 2. ไดอะแกรมแสดงสัดส่วนของสัตว์กัดแทะในประเทศไทย

McNeely, 1977) ดังภาพที่ 2 สัตว์กัดแทะเฉพาะถิ่นของไทยมี 2 ชนิด (Marshall, 1976) เป็นสัตว์จำพวกหนู ได้แก่ หนูขนเสี้ยนเขาหินปูน (*Niviventer hinpoon*) พบบริเวณถ้ำที่ภูน้ำตก อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี และบริเวณเขาหินปูนในจังหวัดลพบุรี อีกชนิดหนึ่งคือหนูถ้ำ (*Leopoldamys neilli*) พบบริเวณเดียวกันกับหนูขนเสี้ยนเขาหินปูน และบริเวณซอกเขาหินปูนที่อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี ประเทศไทยเริ่มสำรวจและศึกษาฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กจากแหล่งสะสมตัวตามถ้ำและตามโพรงหินปูนในปี พ.ศ. 2533 โดยเก็บตัวอย่างฟอสซิลเหล่านี้จากแหล่งภูเขาหินปูน และถ้ำจากหลายๆ บริเวณทั่วประเทศ จากการสำรวจที่ผ่านมาทำให้ค้นพบแหล่งสะสมตัวของฟอสซิลประมาณ 20 แหล่ง และพบฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กจำพวกสัตว์กัดแทะชนิดใหม่ๆ หลายชนิด เมื่อทำการศึกษาทำให้ทราบรายละเอียดของชนิด อายุ สภาพแวดล้อม และสภาพภูมิอากาศ ของฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กในประเทศไทย ตั้งแต่ตอนปลายยุคเทอร์เชียรี่ถึงยุคควอเทอร์นารี นอกจากนี้จากคุณลักษณะของฟอสซิลที่ค้นพบสามารถทราบถึงวิวัฒนาการ และความสัมพันธ์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กเหล่านี้ได้เป็นอย่างดี (Chaimanee, 1998; Chaimanee and Jaeger, 1993, 1998; Chaimanee et al.,1993a, 1993b, 1996)

สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็ก ที่พบตามถ้ำ และโพรงหินปูน (caves and fissure fillings) ในยุคเทอร์เชียรีและควอเทอร์นารี่บริเวณภาคตะวันตกของประเทศไทย โดยในขั้นแรกจะเน้นเฉพาะสัตว์กัดแทะ (Rodentia) ก่อน เปรียบเทียบฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ในบริเวณนี้ในปัจจุบัน จัดทำลำดับชั้นทางชีวภาพ (biostratigraphy) สร้างแบบจำลองสภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศในอดีต (paleoenvironment and paleoclimate) ของพื้นที่บริเวณภาคตะวันตกของประเทศไทย โดยอาศัยข้อมูลจากกลุ่มสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กเหล่านี้

## วิธีการ

การศึกษาวิจัยฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็ก ในพื้นที่บริเวณภาคตะวันตกของประเทศไทย เริ่มดำเนินการโดยออกสำรวจค้นหาแหล่งที่มีการสะสมตัวของฟอสซิล โดยสำรวจบริเวณภูเขาหินปูนจากบริเวณถ้ำ หรือเหมือง

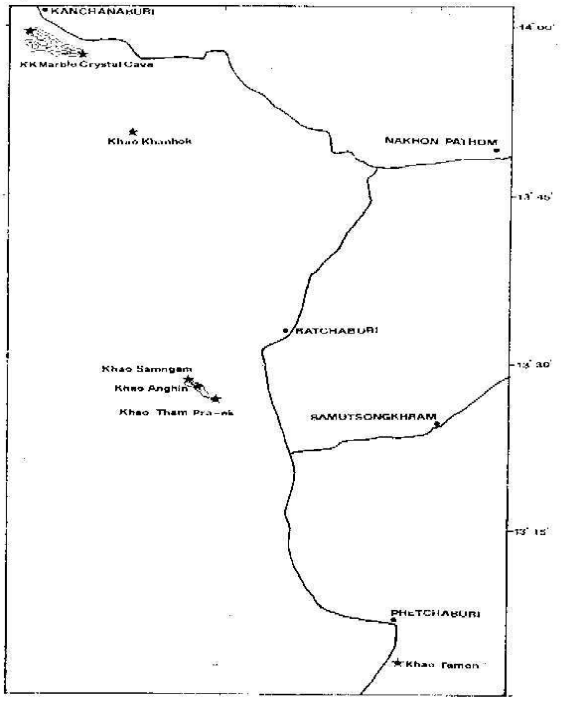
หินปู นซึ่งบริเวณที่ทำการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี และแหล่งสะสมตัวฟอสซิลที่ศึกษาครั้งนี้มีจำนวน 7 แหล่ง ได้แก่ KK Marble ถ้ำแก้ว และเขาคันหอก ในจังหวัดกาญจนบุรี เขาสามง่าม เขาอ่างหิน และเขาถ้ำพระเอก ในจังหวัดราชบุรี และเขาทะโมน ในจังหวัดเพชรบุรี ดังภาพที่ 3 ตัวอย่างฟอสซิลเหล่านี้จะถูกนำเข้าห้องปฏิบัติการ และละลายสารที่เชื่อมตะกอนออกด้วยกรดฟอร์มิคเจือจางประมาณ 10% ล้างด้วยน้ำ ร่อนด้วยตระแกรงร่อนขนาด 0.7 มิลลิเมตร และตากให้แห้ง ส่วนที่ไม่ละลายให้ใส่กรดใหม่ ทำซ้ำจนละลายหมด เมื่อตะกอนแห้งแล้วให้คัดเลือกเอาฟอสซิลออกภายใต้กล้องขยาย ซึ่งจะได้ส่วนกระดูกและฟัน มาทำการศึกษาวิจัยต่อไป

ส่วนที่มีประโยชน์ในการวิจัยมากที่สุด ได้แก่ ชิ้นส่วนฟัน เนื่องจากสัตว์แต่ละชนิดมีลักษณะฟันที่บ่งชี้เฉพาะตัว และฟันเป็นส่วนที่แข็งแรงที่สุดที่เหลืออยู่เนื่องทนทานต่อการสึกกร่อนได้เป็นอย่างดี โดยจะนำมาศึกษาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฟอสซิลที่ศึกษามาแล้วและฟันสัตว์ปัจจุบัน ที่มีเก็บไว้ตามพิพิธภัณฑ์ต่างๆ โดยทำการจำแนกชนิด วัด

ขนาด ศึกษาในขั้นรายละเอียด ถ่ายภาพรายละเอียดของฟันโดยใช้วิธีการถ่ายภาพแบบสแกนนิงอิเลคตรอนไมโครสโคพ และจัดทำรายงานผลจากการศึกษาต่อไป

**การหาอายุสัมพัทธ์ (Absolute Dating)**

การบอกอายุที่แน่นอนของฟอสซิลทำได้ยากมาก เนื่องจากพบฟอสซิลอยู่ในแหล่งสะสมตัวที่เป็นถ้ำหรือโพรงหินที่ไม่มีลำดับชั้นหินในการสะสมตัวของตะกอนโพรงถ้ำแต่ละโพรงถือเป็นอิสระต่อกันไม่สามารถบอกความสัมพันธ์โดยตรงได้ เพื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มฟอสซิลจึงต้องมีค่าอายุจากวิธีทางกายภาพหรือเคมีช่วยในการหาอายุประกอบ ในการศึกษาครั้งนี้ได้หาอายุสัมพัทธ์ประกอบ 2 วิธี ได้แก่



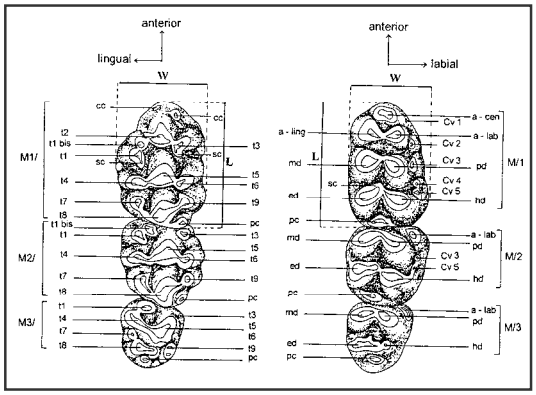
ภาพที่ 3. บริเวณที่ทำการศึกษา

***1. การหาอายุจากขั้วแม่เหล็กโลกโบราณ (Paleomagnetic Dating)*:** โดยเปรียบเทียบทิศทางขั้วแม่เหล็กที่บันทึกอยู่ในชั้นหินกับทิศทางมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบ ได้เก็บตัวอย่างเพื่อหาค่าจากแหล่ง KK Marble และเขาคันหอก พบว่าตัวอย่างจากแหล่ง KK Marble ให้ขั้วแม่เหล็ก reverse แสดงว่าตัวอย่างนี้มีอายุมากกว่า 700,000 ปี เนื่องจากขั้วแม่เหล็กโลกตั้งแต่ 700,000 ปีจนถึงปัจจุบันเป็นขั้วแม่เหล็กแบบ normal ส่วนตัวอย่างอื่นวัดค่าไม่ได้อาจเนื่องจากมีแร่บางชนิดที่เข้ามาแทรกภายหลังการตกตะกอนซึ่งรบกวนทิศทางขั้วแม่เหล็ก

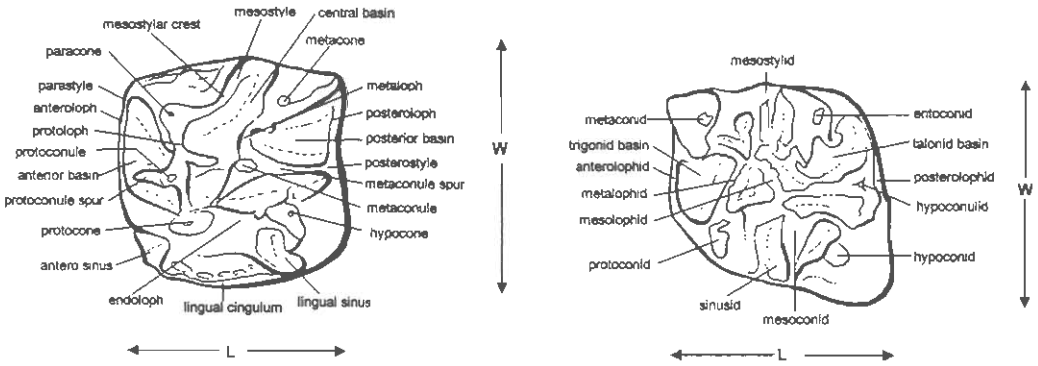
***2. การหาอายุโดยวิธีกัมมันตภาพรังสี (U/Th Dating)*:** โดยเก็บตัวอย่างสายแร่แคลไซต์ที่ปิดทับชั้นตะกอนที่มีฟอสซิลสะสมตัวอยู่ หรือชั้นแคลไซต์ที่แทรกอยู่ระหว่างชั้นตะกอนดังกล่าว ได้เก็บตัวอย่างแร่จากหลายบริเวณ ได้แก่ ถ้ำแก้ว, เขาคันหอก และเขาทะโมน ตัวอย่างแคลไซต์จากถ้ำแก้ว และเขาคันหอก ไม่สามารถหาค่าได้เนื่องจากสายแร่ที่เก็บมาไม่บริสุทธิ์พอ มีตะกอนปะปนอยู่ในเนื้อแร่จำนวนมาก ส่วนตัวอย่างแคลไซต์จากเขาทะโมนได้อายุประมาณ 400,000 ปี

**การบรรยายลักษณะฟันสัตว์ (Dental Nomenclature)**

เนื่องจากสัตว์กัดแทะที่ทำการศึกษาครั้งนี้มี 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ หนู (Murinae) กระรอกบิน (Petauristinae) และกระรอก (Sciurinae) การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะฟันของสัตว์เหล่านี้ใช้การบรรยายลักษณะฟันสัตว์กัดแทะ โดยหนู (Murinae) ใช้การบรรยายตามวิธีของ Misonne (1969) ส่วนกระรอกบินและกระรอก ใช้การบรรยายตามวิธีของ Dehm (1962) และ McKenna (1962) ดังภาพที่ 4-6 ตามลำดับ



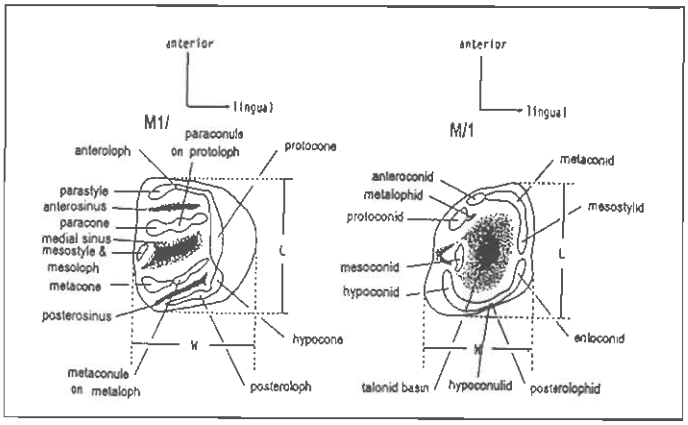
ภาพที่ 4. ลักษณะฟันของหนู (Murinae)
ฟันบน (แถวซ้าย): pc=posterior cingulum, cc=cingular conule, sc=stephanodont crest, t1-t9=cusp numbers.
ฟันล่าง (แถวขวา): a-cen=anterocentral cusp, a-ling= anterolingual cusp, a-lab=anterolabial cusp, md=metaconid, pd=protoconid, ed=entoconid, hd=hypoconid, pc=posterior cingulum, Cv1-Cv5=labial cusplets. L=length, W=width




ภาพที่ 5. ลักษณะฟันบน (ซ้าย) และฟันล่าง (ขวา) ของกระรอกบิน (Petauristinae): L=length, W=width.

## ผลการวิจัย

เนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าภาคตะวันตกของประเทศไทยเป็นบริเวณที่มีแนวโน้มในการค้นพบฟอสซิลสัตว์มีกระดูกสันหลังโดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์กัดแทะชนิดใหม่หลายชนิด การศึกษาครั้งนี้จึงเน้นศึกษาในขั้นรายละเอียดเฉพาะบริเวณ เนื่องจากบริเวณภาคตะวันตกมีศักยภาพในการพบฟอสซิลได้ง่ายและฟอสซิลที่พบมีความน่าสนใจสูง ผลการศึกษาพบแหล่งฟอสซิลใหม่ๆ หลายบริเวณ แต่บริเวณที่พบฟอสซิลเป็นจำนวนมากพอสำหรับการศึกษาเปรียบเทียบในขั้นรายละเอียดมีจำนวน 7 แหล่ง ได้แก่ KK Marble ถ้ำแก้ว เขาคันหอก ในจังหวัดกาญจนบุรี เขาสามง่าม เขาอ่างหิน เขาถ้ำพระเอก ในจังหวัดราชบุรี และเขาทะโมนในจังหวัดเพชรบุรี โดยพบฟอสซิลสัตว์กัดแทะจำนวน 34 ชนิด เป็นสัตว์จำพวกหนู 23 ชนิด กระรอก 4 ชนิด กระรอกบิน 6 ชนิด และอ้น 1 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นฟอสซิลสัตว์กัดแทะชนิดใหม่ 5 ชนิด ได้แก่ กระรอกบิน *Belomys thamkaewi* n. sp. และหนู 4 ชนิด ได้แก่ *Ratchaburimys* n. sp. 2 ชนิด, *Prohadromys* n. sp. และ *Saidomys* n. sp. รายละเอียดของฟอสซิลที่พบในแต่ละบริเวณแสดงในตารางที่ 1




ภาพที่ 6. ลักษณะฟันของกระรอก (Sciurinae), L=length, W=width.

### บริเวณที่ทำการศึกษา และฟอสซิล (Geographic Setting and Faunal Composition)

***แหล่ง KK Marble***

บริเวณที่พบฟอสซิลเป็นเหมืองหินอ่อนของบริษัท KK Marble ตั้งอยู่ทางตอนใต้ของอำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ราว 10 กม. ระดับความสูงราว 100 เมตรจากระดับน้ำทะเล ตัวอย่างหินตะกอนที่มีฟอสซิลพบสะสมตัวเป็นกะเปาะขนาดเล็กอยู่ในหินปูนยุคเพอร์เมียน (Permian)

ฟอสซิลที่พบในบริเวณนี้ส่วนใหญ่ ได้แก่ ค้างคาว โดยพบเป็นชิ้นส่วนของกระดูก (limb bone) ที่แตกหักไม่ครบสมบูรณ์ และส่วนของกระดูกหู (ear bone) สัตว์กัดแทะพบอยู่น้อยมาก โดยพบทั้งกระรอก (*Callosciurus* cf. *finlaysonii)* และกระรอกบินเล็ก (*Hylopetes phayrei*) ส่วนพวกหนูพบ หนูหริ่งไม้หางพู่ (*Chiropodomys gliroides*) และหนูขนเสี้ยน (*Niviventer fulvescens*)

จากการเจาะเก็บตัวอย่างบางส่วนเพื่อหาอายุโดยวิธีวัดค่าขั้วแม่เหล็กโลกโบราณ พบว่าตัวอย่างบริเวณนี้มีค่าขั้วแม่เหล็กโลกเป็น reverse ซึ่งแสดงว่ามีอายุมากกว่า 7 แสนปี หรือ ไพลสโตซีนตอนต้น (Early Pleistocene)

ตารางที่ 1. ฟอสซิลสัตว์กัดแทะที่ค้นพบในแหล่งต่างๆ ที่ทำการศึกษา

| Fauna\Localities | | KK Marble | Crystal Cave (Dense) | Crystal Cave (Breccia) | Khao Kan Hok (Institue) | Khao Kan Hok (Monkey) | Khao Kan Hok (Breccia 98 | Khao Kan Hok (Breccia 99 | Khao Sanungam | Khao Anghin | Khao Tham Phra-ek | Khao Thamon 1 | Khao Thamon 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Order Rodentia** | | | | | | | | | | | | | |
| **Family Sciuridae** | | | | | | | | | | | | | |
| *Callosciurus* cf. *finlaysonii* | กระรอกหลายสี | X | X | | | | X | X | X | X | | X | |
| *Menetes berdmorei* | กระแต | | X | X | | | X | | X | X | | X | |
| *Rhinosciurus laticaudatus* | กระรอกหน้ากระแต | | | | | | | | X | | | | |
| *Nannosciurus melanotis* | กระรอกจิ๋วหูดำ | | | | | | | | X | | | | |
| *Belomys pearsonii* | กระรอกบินเท้าขน | | | | | | X | | | X | | X | |
| *Belomys thamkaewi n. sp.* | กระรอกบินเท้าขนยักษ์ | | | X | | | | | | | | | |
| *Petaurista petaurista* | พญากระรอกบิน | | | X | | | X | | X | | | | |
| *Hylopetes phayrei* | กระรอกบินเล็กแก้มขาว | X | X | X | | | X | | X | | X | X | |
| *Hylopetes spadiceus* | กระรอกบินเล็กแก้มแดง | | X | X | | | X | X | X | | X | X | |
| *Petinomys setosus* | กระรอกบินจิ๋วท้องขาว | | | X | | | | | | | | | |
| **Family Muridae** | | | | | | | | | | | | | |
| *Vandeleuria oleracea* | หนูมือลิง | | | | | | | | X | | | | |
| *Chiropodomys gliroides* | หนูหริ่งไม้หางพู่ | X | X | | X | X | X | | X | X | | X | |
| *Hapalomys delacouri* | หนูไผ่เล็บแม่มือแบนขนาดเล็ก | | | | | X | | | | | | | |
| *H. longicaudatus* | หนูไผ่เล็บแม่มือแบนขนาดใหญ่ | | X | | | | X | | X | | | X | |
| *Maxomys surifer* | หนูฟานเหลือง | | X | | | | | | X | | | | |
| *Bandicota savilei* | หนูพุกเล็ก | | | | | | | | | | | | |
| *Bandicota indica* | หนูพุกใหญ่ | | | | | | | | | | | | X |
| *Leopoldamys sabanus* | หนูหวาย | | | X | | | X | | | | | | |
| *L. minutus* | หนูหวายเล็ก | | | | | | | X | X | X | | X | |
| *Niviventer fulvescens* | หนูขนเสี้ยนหางยาว | X | X | | | | | | | | | | |
| *Rattus sikkimensis* | หนูขนเสี้ยนดอย | | | X | | | | | | | | | |
| *R. rattus* | หนูท้องขาว | | X | | | | | | | | | | |
| *R. jaegeri* | หนูคุณเจเจ้ | | | | | | | | X | X | | X | |
| *Mus shortridgei* | หนูหริ่งป่าใหญ่ขนเสี้ยน | | X | X | | | X | | X | | | X | X |
| *M. cookii* | หนูหริ่งใหญ่ | | | | | | X | | X | X | | | |
| *M. caroli* | หนูหริ่งนาหางยาว | | | | | | | | X | | | | |
| *Ratchaburimys ruchae* | หนูคุณรุจา | | | | | | | | X | X | | X | |
| *Ratchaburimys* sp. (smaller) | หนูคุณรุจาเล็ก | | | | | X | X | | | | | | |
| *Ratchaburimys* sp. (larger) | หนูคุณรุจาใหญ่ | | | | | | | | | | | >? | |
| *Prohadromys* sp. (larger) | หนูคุณวราวุธใหญ่ | | | | | | | | | | | >? | |
| *Prohadromys varavudhi* | หนูคุณวราวุธ | | | | | | | | X | | | | |
| *Hadromy humei* | หนูคุณฮูม | | X | | | | | | | | | | X |
| *Saidomys siamensis* | หนูสยาม | | | | | | | | X | | | | |
| *Saidomys* sp. (*smaller*) | หนูสยามเล็ก | | | | | <? | | | | | | | |
| *Rhizomys* sp. | อ้น | | | | | X | X | | X | | | | |

***แหล่งถ้ำแก้ว (Crystal Cave)***

บริเวณนี้เป็นเหมืองหินปูนเก่าที่เลิกดำเนินการไปแล้ว ทางจังหวัดจึงต้องการพัฒนาให้เป็นแหล่งท่องเที่ยว เนื่องจากพบโพรงถ้ำที่มีผลึกแคลไซต์สวยงามอยู่จำนวนมาก บริเวณที่เก็บตัวอย่างตั้งอยู่บริเวณเขาแรด อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งเป็นหินปูนยุคเพอร์เมียน (Permian) อยู่ห่างจากอำเภอเมืองราว 10 กม. อยู่ที่ระดับความสูงราว 100 เมตรจากระดับน้ำทะเล เนื่องจากบริเวณนี้มีโพรงหินปูนที่มีการสะสมตัวของฟอสซิลอยู่จำนวนมาก จึงได้เก็บตัวอย่างจำนวนมากจากหลายจุด โดยแยกแต่ละจุดเพื่อนำมาหาฟอสซิล ได้แก่ Crytal Cave (Dense), Crystal Cave (Breccia), Crystal Cave (F-matrix) และ Crystal Cave (C-matrix)

พบฟอสซิลสัตว์กัดแทะจำนวนมากบริเวณนี้ โดยพบคล้ายคลึงกันทั้ง 4 จุด Crystal Cave (Breccia) พบฟอสซิลมากที่สุด โดยพบทั้งพวกกระรอก (Sciuridae) และหนู (Muridae) ฟอสซิลกระรอกที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกกระรอกบิน ได้พบฟอสซิลกระรอกบินชนิดใหม่ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับฟอสซิลกระรอกบินเท้าขน แต่มีขนาดใหญ่กว่าราว 50% ให้ชื่อว่า *Belomys thamkaewi* n. sp. ซึ่งได้ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสาร Mammalia (Chaimanee and Jaeger, 2000a) และยังพบกระรอกบินชนิดอื่นๆ ได้แก่ กระรอกบินเล็ก (*Hylopetes phayrei* และ *H. spadiceous*) กระรอกบินจิ๋ว (*Petinomys setosus*) และพญากระรอกบิน (*Petaurista petaurista*) แต่มีจำนวนน้อย นอกจากนี้ยังพบกระรอก (*Callosciurus* sp.) และกระแต (*Menetes berdmorei*) ซึ่งมีจำนวนน้อยเช่นกัน ส่วนฟอสซิลจำพวกหนูที่ค้นพบมีหลายชนิด ได้แก่ หนูหริ่งไม้หางพู่ *(Chiropodomys gliroides)* หนูไผ่เล็บแม่มือแบนขนาดใหญ่ (*Hapalomys longicaudatus*) หนูฟานเหลือง (*Maxomys surifer*) หนูหวาย (*Leopoldamys sabanus*) หนูท้องขาวหางยาว (*Rattus sikkimensis*) และหนูหริ่ง (*Mus shortridgei*) นอกจากนี้ยังพบฟอสซิลหนูคุณฮูม (*Hadromys humei*) ซึ่งเป็นหนูที่อยู่บริเวณแห้งแล้งและอากาศค่อนข้างหนาวเย็น โดยได้ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสาร Journal of Mammalogy (Chaimanee and Jaeger, 2000b)

ฟอสซิลที่พบทั้งหมดในบริเวณนี้ยังไม่มีชนิดใดสูญพันธุ์ไปเลย เว้นแต่กระรอกบินเท้าขนขนาดใหญ่ ส่วนบางชนิดไม่พบในประเทศไทยอีกเลย แต่ยังพบอาศัยอยู่ในบริเวณอื่น เช่น หนูคุณฮูม (*Hadromys humei*) จากการเปรียบเทียบกลุ่มสัตว์ที่พบ คาดว่าสัตว์เหล่านี้น่าจะมีอายุอยู่ในช่วงปลายยุคไพลสโตซีนตอนกลาง ถึงยุคไพลสโตซีนตอนปลาย (late Middle Pleistocene–late Pleistocene)

***แหล่งเขาคันหอก (Khao Khan Hok)***

เขาคันหอกเป็นเขาโดดขนาดเล็ก ตั้งอยู่ในอำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี อยู่ที่ระดับความสูงราว 140 เมตรจากระดับน้ำทะเล บริเวณนี้เป็นเหมืองหินปูนที่กำลังดำเนินการอยู่ เนื่องจากมีโพรงหินปูนที่มีการสะสมตัวของฟอสซิลอยู่จำนวนมาก จึงเก็บตัวอย่างจากหลายจุดเพื่อหาฟอสซิล ได้แก่ Khao Khanhok (Insitue), Khao Khan Hok (Monkey), Khao Khan Hok (Breccia 98) และ Khao Khan Hok (Breccia 99) พร้อมทั้งได้ทำการเจาะเก็บตัวอย่างตะกอนที่มีฟอสซิลหลายจุดเพื่อหาอายุแม่เหล็กโลกโบราณ แต่ผลปรากฏว่าตัวอย่างที่เก็บมาไม่สามารถวัดค่าได้เนื่องจากมีแร่บางตัวแทรกเข้ามาภายหลัง เข้าไปรบกวนทิศทางแม่เหล็กเดิม

Khao Khan Hok (Insitue) พบฟอสซิลน้อยมาก ส่วนจุดอื่นพบฟอสซิลคล้ายคลึงกัน จุดที่พบฟอสซิลหลายชนิดและฟอสซิลมีลักษณะพิเศษคือ Khao Khan Hok (Monkey) และ Khao Khan Hok (Breccia 98) โดยพบทั้งพวกกระรอก (Sciuridae) และหนู (Muridae) ฟอสซิลกระรอกที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกกระรอกบิน ได้แก่ กระรอกบินเท้าขน (*Belomys pearsonii)* และกระรอกบินเล็ก (*Hylopetes phayrei* และ *H. spadiceous*) ส่วนพญากระรอก (*Petaurista petaurista*) พบน้อยมาก นอกจากนี้ยังพบกระรอก (*Callosciurus* sp.) และกระแต (*Menetes berdmorei*) ด้วย แต่มีจำนวนน้อย ส่วนฟอสซิลจำพวกหนูที่ค้นพบมีหลายชนิด ได้แก่ หนูหริ่งไม้หางพู่ *(Chiropodomys gliroides)* หนูหวาย (*Leopoldamys sabanus*) หนูหริ่ง (*Mus shortridgei*) และหนูไผ่เล็บแม่มือแบนขนาดเล็ก (*Hapalomys delacouri*) ซึ่งเป็นการพบหนูไผ่เล็บแม่มือแบนขนาดเล็กครั้งแรกในบริเวณภาคตะวันตกของประเทศไทย เนื่องจากหนูดังกล่าวมีพื้นที่อาศัยอยู่เฉพาะถิ่นบริเวณภาคเหนือของประเทศลาว เวียดนาม และที่เกาะไหหลำของจีนเท่านั้น (Musser, 1972) ฟอสซิลของหนูไผ่เล็บแม่มือแบนขนาดเล็ก (*Hapalomys delacouri*) เคยพบเพียงที่เดียวคือ ถ้ำจังหวัดชัยภูมิ นอกจากนี้ยังพบฟอสซิลที่มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่าง *Maxomys-Ratchaburimys* ซึ่งการค้นพบดังกล่าวช่วยสนับสนุนสมมติฐานว่า

หนู *Ratchaburimys* มีวิวัฒนาการมาจาก หนูฟาน (*Maxomys*) ซึ่งเป็นหนูที่มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในพื้นที่ Sundaic Subregion (Chaimanee et al., 1996) ขณะนี้กำลังทำการศึกษาลักษณะโดยละเอียด และจัดเตรียมรายงานเพื่อนำเสนอเรื่องนี้ต่อไป ยังมีการค้นพบหนู *Saidomys* ซึ่งมีขนาดเล็กกว่า *Saidomys siamensis* ที่เคยค้นพบที่แหล่งเขาสามง่าม จังหวัดราชบุรี หนู *Saidomys* เป็นหนูที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา พบตั้งแต่ยุคไมโอซีนตอนปลาย หรือประมาณ 8 ล้านปีมาก่อน (Winkler, 1997) พบครั้งแรกที่ประเทศอียิปต์เมื่อราว 3-4 ล้านปีก่อน (James and Slaughter, 1974) และ (Slaughter and James, 1979) และมีการเคลื่อนย้ายมาสู่ทวีปเอเชีย โดยพบที่ประเทศอาฟกานิสถานเมื่อราว 3 ล้านปี (Sen, 1983) และพบหนูชนิดนี้ครั้งแรกที่จังหวัดราชบุรีในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ หนูชนิดนี้ชอบอาศัยอยู่ตามทุ่งหญ้า การค้นพบหนูชนิดนี้ในประเทศไทยสามารถบอกสภาพแวดล้อมของบริเวณนี้ ซึ่งน่าจะมีสภาพค่อนข้างเปิดเป็นทุ่งหญ้าในช่วงเวลาดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบฟอสซิลอันด้วยแต่มีจำนวนน้อย

นอกจากฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กแล้ว บริเวณนี้ยังพบฟอสซิลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดใหญ่ด้วย เช่น แรด ลิง และกวาง สำหรับฟอสซิลแรดและกวางพบเพียงฟันชี่เดี่ยวๆ ส่วนฟิสซิลลิงพบหลังจากการเตรียมตัวอย่างละลายเอาตะกอนที่เคลือบออกซึ่งใช้เวลาราว 1 ปี พบว่าเป็นส่วนหัวกระโหลกที่มีสภาพสมบูรณ์มาก ได้นำไปศึกษาเปรียบเทียบรายละเอียดกับกระโหลกลิงปัจจุบันในพิพิธภัณฑ์ต่างๆ พบว่ามีขนาดใหญ่กว่าลิงปัจจุบันที่ค้นพบในประเทศไทยและเพื่อนบ้านทุกชนิด ขณะนี้กำลังศึกษาเปรียบเทียบกับฟอสซิลลิงที่มีการค้นพบในภูมิภาคนี้

ฟอสซิลที่พบทั้งหมดในบริเวณนี้น่าสนใจมากเนื่องจากเป็นฟอสซิลชนิดใหม่หลายชนิด สามารถเชื่อมโยงและอธิบายฟอสซิลที่เคยมีการศึกษามาก่อน จากการเปรียบเทียบกลุ่มสัตว์ที่พบซึ่งมีหลายชนิดที่สูญพันธุ์ไปแล้ว คาดว่าสัตว์เหล่านี้น่าจะมีอายุอยู่ในช่วงปลายยุคไพลโอซีนตอนต้น (late early Pliocene) ราว 2-3 ล้านปีก่อน

***แหล่งเขาสามง่าม (Khao Samngam)***

บริเวณนี้เป็นเหมืองหินปูนที่กำลังดำเนินการอยู่ ตั้งอยู่บริเวณเทือกเขาสามง่าม อำเภอปากท่อ จังหวัดราชบุรี อยู่ห่างจากอำเภอเมืองราว 14 กม. อยู่ที่ระดับความสูงราว 140 เมตรจากระดับน้ำทะเล ตัวอย่างที่เก็บได้เป็นหินตะกอนที่สะสมตัวในถ้ำมาก่อน และถ้ำนี้โดนระเบิดจากการทำเหมืองหินครั้งนี้ เนื่องจากจุดที่เก็บตัวอย่างเป็นบริเวณที่เคยเป็นถ้ำขนาดใหญ่ จึงมีการสะสมตัวของตะกอนและมีซากฟอสซิลเป็นจำนวนมาก

จากการศึกษาพบฟอสซิลสัตว์กัดแทะจำนวนมากบริเวณนี้ ทั้งพวกกระรอก (Sciuridae) และหนู (Muridae) โดยฟอสซิลกระรอกที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกกระรอกบิน ได้แก่ กระรอกบินเล็ก (*Hylopetes phayrei* และ *H. spadiceous*) และพญากระรอกบิน (*Petaurista petaurista*) นอกจากนี้ยังพบกระรอก (*Callosciurus* sp.) กระแต (*Menetes berdmorei*) ส่วนกระรอกหน้ากระแต (*Rhinosciurus laticaudatus*) พบจำนวนน้อย กระรอกชนิดนี้ปกติมีอยู่เฉพาะใน Sundaic subregion คือ ใต้คอคอดกระลงไปเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบฟอสซิลกระรอกจิ๋ว (*Nannosciurus melanotis*) ซึ่งหายากมาก ปัจจุบันมีอยู่จำนวนน้อยมากบนเกาะบอร์เนียว เกาะสุมาตรา และเกาะชวาเท่านั้น ฟอสซิลกระรอกชนิดนี้เคยพบที่แหล่งเขาทอย จังหวัดพังงา ภาคใต้ของไทย การค้นพบฟอสซิลกระรอกชนิดนี้ในภาคกลางของไทย แสดงให้เห็นถึงบริเวณการแพร่กระจายของกระรอกชนิดนี้กว้างขวางมากในอดีต ส่วนฟอสซิลจำพวกหนูที่ค้นพบมีหลายชนิด ได้แก่ หนูมือลิง (*Vandelauria oleracea*) หนูหริ่งไม้หางพู่ *(Chiropodomys gliroides)* หนูไผ่เล็บแม่มือแบนขนาดใหญ่ (*Hapalomys longicaudatus*) หนูฟานเหลือง (*Maxomys surifer*) และหนูหริ่ง (*Mus shortridgei*) นอกจากนี้ยังพบหนูหลายชนิดที่สูญพันธุ์ไปแล้ว ได้แก่ หนู *Ratchaburimys ruchae* ซึ่งคาดว่าวิวัฒนาการมาจากหนูฟาน (*Maxomys*) หนู *Saidomys siamensis* และหนู *Prohadromys varavudhi* หนูทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว เป็นหนูที่ดำรงชีวิตอยู่ตามบริเวณที่มีอากาศค่อนข้างแห้งแล้งและบริเวณที่เป็นทุ่งหญ้า เนื่องจากฟันหนูเหล่านี้มีลักษณะพิเศษสำหรับการบดเคี้ยวหญ้าดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบหนูหวายเล็ก (*Leopoldamys minutus*) ซึ่งเป็นหนูเฉพาะถิ่นของไทยในช่วงไพลโอซีน หนู *Rattus jaegeri* ซึ่งเป็นหนู *Rattus* ที่เก่าแก่ที่สุด พบครั้งแรกที่เขาสามง่ามนี้ การค้นพบหนูชนิดนี้ในประเทศไทยสามารถบอกสภาพแวดล้อมของบริเวณนี้ซึ่งน่าจะมีสภาพค่อนข้างเปิดเป็นทุ่งหญ้าในยุคนั้น นอกจากนี้ยังพบฟอสซิลอันด้วยแต่มีจำนวนน้อย ฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กอื่นอีกหลายชนิด ได้แก่ ค้างคาว สัตว์จำพวกกินแมลง (Insectivora) กระแต (*Tupaia glis*) สัตว์กินเนื้อขนาดเล็ก และสัตว์เลื้อยคลานขนาดเล็ก

จากการค้นพบหนูหลายชนิดที่สูญพันธ์ไปแล้วดังกล่าว คาดว่าแหล่งเขาสามง่ามมีอายุอยู่ในช่วงปลายยุคไพลโอซีน (late Pliocene) หรือราว 3 ล้านปีก่อน

***แหล่งเขาอ่างหิน (Khao Anghin)***

บริเวณนี้เป็นเหมืองหินปูนที่กำลังดำเนินการอยู่ อยู่ห่างจากแหล่งเขาสามง่ามมาทางใต้ราว 500 เมตร บริเวณที่เก็บตัวอย่างตั้งอยู่บริเวณเทือกเขาสามง่าม อำเภอปากท่อ จังหวัดราชบุรี ห่างจากอำเภอเมืองราว 14 กม. อยู่ที่ระดับความสูงราว 140 เมตรจากระดับน้ำทะเล ตัวอย่างที่เก็บได้เป็นหินตะกอนที่สะสมตัวในถ้ำมาก่อน และถ้ำนี้โดนระเบิดจากการทำเหมืองหิน

พบฟอสซิลสัตว์กัดแทะจำนวนมากบริเวณนี้ ทั้งพวกกระรอก (Sciuridae) และหนู (Muridae) โดยฟอสซิลส่วนใหญ่เป็นกระรอก (*Callosciurus* cf. *finlaysonii)* และกระแต (*Menetes berdmorei*) พบกระรอกบินเท้าขน (*Belomys pearsonii)* บ้าง แต่มีจำนวนน้อย ส่วนฟอสซิลจำพวกหนูที่ค้นพบมีหลายชนิด ได้แก่ หนูหริ่งไม้หางพู่ *(Chiropodomys gliroides)* หนูหริ่ง (*Mus cookii*) พบฟอสซิลหนูที่สูญพันธุ์ไปแล้วเช่นเดียวกับแหล่งเขาสามง่าม ได้แก่ หนุคุณรุจา (*Ratchaburimys ruchae*) และหนูหวายเล็ก (*Leopoldamys minutus*) นอกจากยังพบฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่น เช่น ค้างคาว สัตว์กินแมลง (Insectivora) หนูผี (*Crocidura* sp.) กระแต (*Tupaia glis*) ฟอสซิลลิง พบเฉพาะชิ้นส่วนฟันเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบฟอสซิลสัตว์เลื้อยคลานขนาดเล็กอีกหลายชนิด

จากกลุ่มฟอสซิลที่พบมีลักษณะคล้ายคลึงกับฟอสซิลแหล่งเขาสามง่าม แต่เนื่องจากพบฟอสซิลปริมาณน้อยกว่าแหล่งเขาสามง่ามมาก จึงคาดว่ามีอายุเดียวกัน คือ ไพลโอซีนตอนปลาย (late Pliocene) ราว 3 ล้านปีก่อน

***แหล่งเขาถ้ำพระเอก (Khao Tham Phra-ek)***

เขาถ้ำพระเอกตั้งอยู่ในที่อำเภอปากท่อ จังหวัดราชบุรี อยู่ที่ระดับความสูงราว 140 เมตรจากระดับน้ำทะเล บริเวณนี้เป็นเหมืองหินปูนที่กำลังดำเนินการอยู่ พบฟอสซิลจำนวนน้อยมาก ลักษณะตะกอนจะเป็นเศษหินปูนมาตกตะกอนใหม่พร้อมฟอสซิลคล้ายหินจากผนังถ้ำเดิมถล่มลงมาทับถมกันใหม่ เก็บตัวอย่างได้น้อยมาก

พบฟอสซิลสัตว์กัดแทะจำนวนไม่มากนักจากบริเวณนี้ แต่พบทั้งพวกกระรอก (Sciuridae) และหนู (Muridae) โดยฟอสซิลกระรอกที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกกระรอกบิน ได้แก่ กระรอกบินเล็ก (*Hylopetes phayrei* และ *H. spadiceous*)

***แหล่งเขาทะโมน (Khao Tamon)***

เขาทะโมนเป็นเขาหินปูนลูกโดดขนาดเล็ก ตั้งอยู่บนพื้นที่ราบที่เป็นทุ่งนา บริเวณนี้เป็นเหมืองหินปูนเก่าที่เลิกดำเนินการไปหลายปีแล้ว บริเวณที่พบฟอสซิลเป็นส่วนของถ้ำที่เหลือจากการระเบิดทำเหมืองหิน ตั้งอยู่ในอำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี ห่างจากตัวอำเภอเมืองราว 10 กิโลเมตร อยู่ที่ระดับความสูงราว 140 เมตรจากระดับน้ำทะเล พบร่องรอยฟอสซิลสะสมตัวอยู่จำนวนมากตามเพดานและผนังถ้ำ ได้เก็บตัวอย่างจำนวนมากมาศึกษา เรียกจุดนี้ว่า Khao Tamon 1 ห่างออกไปราว 100 เมตร พบโพรงหินซึ่งมีฟอสซิลจำนวนมาก เรียกจุดนี้ว่า Khao Tamon 2

จุด Khao Tamon 1 พบฟอสซิลสัตว์กัดแทะจำนวนมาก ทั้งพวกกระรอก (Sciuridae) และหนู (Muridae) โดยฟอสซิลกระรอกที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกกระรอกบินเล็ก (*Hylopetes phayrei)* และกระรอกบินเท้าขน (*Belomys pearsonii)* มีกระรอกบินเล็ก (*H. spadiceous*) บ้างแต่จำนวนน้อย นอกจากนี้ยังพบกระรอก (*Callosciurus* sp.) และกระแต (*Menetes berdmorei*) ด้วยแต่มีจำนวนน้อย ส่วนฟอสซิลจำพวกหนูที่พบมีหลายชนิด ได้แก่ หนูหริ่งไม้หางพู่ (*Chiropodomys gliroides*) หนูไผ่เล็บแม่มือแบนขนาดใหญ่ (*Hapalomys longicaudatus*) หนูหวาย (*Leopodamys* cf. *minutus*) หนู (*Rattus* cf. *jaegeri*) และหนูหริ่ง (*Mus shortridgei*) นอกจากนี้ยังพบหนูหลายชนิดที่สูญพันธุ์ไปแล้ว ได้แก่ หนู (*Ratchaburimys* sp.) แต่พบจำนวนน้อยมาก พบหนูชนิดใหม่ที่มีลักษณะคล้ายหนูคุณวราวุธ แต่มีขนาดใหญ่กว่า (*Prohadromys* n. sp.) พบว่าน่าสนใจมากเนื่องจากมีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างหนูอาฟริกา (*Saidomys*) และหนูที่มีลักษณะดั้งเดิมกว่า *Hadromys* แต่มีขนาดใหญ่กว่า ซึ่งอาจพบการวิวัฒนาการต่อเนื่องของหนูชนิดนี้ แต่เนื่องจากพบฟอสซิลจำนวนน้อยมากจึงยังไม่สามารถสรุปผลออกมาได้

ฟอสซิลที่พบทั้งหมดในบริเวณนี้น่าสนใจมากและกำลังศึกษาในขั้นรายละเอียด มีฟอสซิลหลายชนิดที่สูญพันธุ์ไปแล้ว เช่น *Ratchaburimys* และ *Prohadromys* n. sp. เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มฟอสซิลจากเขาสามง่ามที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันพบว่าฟอสซิลบริเวณนี้มีวิวัฒนาการมากกว่า คาดว่ามีอายุอ่อนกว่าเขาสามง่ามน่าจะอยู่ในช่วงไพลสโตซีนตอนต้น (Early Pleistocene) ได้ทำการเก็บสายแร่แคลไซต์ที่แทรกเข้ามาในชั้นหินเพื่อหาอายุทางกัมมันตภาพรังสี U/Th พบว่าได้อายุราว 400,000 ปี แต่สายแร่ดังกล่าวอาจจะเกิดขึ้นภายหลังและคาดว่าชั้นฟอสซิลน่าจะเกิดก่อนที่สายแร่จะตัดเข้ามามาก

จุด Khao Tamon 2 พบฟอสซิลน้อยมาก แต่พบหนูคุณฮูม (*Hadromys humei*) หนูหริ่ง (*Mus shortridgei*) และหนูพุก (*Bandicota*) ฟอสซิลที่พบจุดนี้น่าจะมีอายุปลายไพลสโตซีนตอนกลาง (late Middle Pleistocene)

## ความสำคัญของฟอสซิลที่พบ

***หนูคุณฮูม (Hadromys humei)***

ปัจจุบันมีหนูคุณฮูมเพียงชนิดเดียวเท่านั้น ได้แก่ *Hadromys humei* (Hume's rat) และเป็นหนูเฉพาะถิ่น พบอาศัยอยู่เฉพาะบริเวณตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดียในแคว้นมานิเปอร์ และแคว้นอัสสัม ที่ความสูงประมาณ 1,150-1,320 เมตร ในบริเวณค่อนข้างแห้งแล้ง และเป็นทุ่งหญ้าผสมป่าละเมาะ (Musser, 1987) และพบทางตะวันตกของมณฑลยูนนานในประเทศจีน

การค้นพบฟอสซิลหนูคุณฮูม ในหลายบริเวณทั่วประเทศไทย ทั้งบริเวณภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก ภาคกลาง และภาคใต้จนถึงบริเวณชายแดนประเทศไทย-มาเลเซีย ทำให้ทราบว่าในราว 150,000-200,000 ปีมาแล้ว หรือปลายยุคไพลสโตซีนตอนกลาง (late Middle Pleistocene) หนูชนิดนี้มีแหล่งอาศัยอยู่ในบริเวณแผ่นดินเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวเป็นช่วงที่มีภูมิอากาศหนาวเย็น มีสัตว์หลายชนิดที่ปัจจุบันอาศัยอยู่ในพื้นที่อากาศหนาวเย็นได้อพยพลงมาทางใต้ เช่น แพนด้า (*Ailuropoda melanoleuca*) และหนูหริ่ง (*Mus pahari)* ดังที่ทราบกันดีว่าในยุคน้ำแข็งครั้งสุดท้าย ระดับน้ำทะเลลดลงราว 140 เมตร ทำให้เกิดแผ่นดินใหม่ที่เรียกว่า แผ่นดินซุนด้า (Sundaland) เชื่อมต่อผืนทวีปเข้ากับหมู่เกาะในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้นี้ บริเวณตอนกลางของแผ่นดินซุนด้าเกิดแนวแห้งแล้งหรือที่เรียกว่า savanna corridor เนื่องจากเป็นแผ่นดินที่อยู่ไกลจากลมมรสุม พบว่ามีพืชหลายชนิดซึ่งอยู่ทางตอนเหนือได้แพร่กระจายลงใต้ตามแนวแห้งแล้งนี้ สันนิษฐานว่าหนูคุณฮูม ซึ่งเป็นหนูที่อยู่บริเวณทุ่งหญ้าและอากาศหนาวเย็นน่าจะแพร่กระจายลงมาทางใต้ในช่วงเวลาดังกล่าวด้วย

ผลการศึกษาได้ตีพิมพ์ในวารสารสมาคมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมของอเมริกา Journal of Mammalogy เรื่อง "Occurrence of *Hadromys humei* (Rodentia: Muridae) during the Pleistocene in Thailand" ปี 2543, ฉบับที่ 81 (3) หน้า 659-665.

***กระรอกบินชนิดใหม่ของโลก Belomys thamkaewi* n. sp.**

กระรอกบิน *Belomys* ปัจจุบันมีเพียงชนิดเดียวเท่านั้นในโลก ได้แก่ กระรอกบินเท้าขน (*Belomys pearsonii*) โดยพบแพร่กระจายอยู่เฉพาะบริเวณหิมาลัย (Himalayan subregion) ได้แก่ ประเทศเนปาล แคว้นสิกขิม และแคว้นอัสสัมของประเทศอินเดีย และบริเวณที่อินโดจีน (Indochinese subregion) ได้แก่ ทางใต้ของประเทศจีน ทางเหนือของประเทศพม่า ลาว เวียดนาม และเกาะไต้หวัน (Musser and Carleton, 1993) ส่วนในประเทศไทยพบกระรอกชนิดนี้อยู่บริเวณแนวเทือกเขาเพชรบูรณ์ ถึงจังหวัดนครราชสีมา (Lekagul and McNeely, 1977) ต่อมาพบเพิ่มเติมบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง (Robinson et al, 1995)

การค้นพบฟอสซิลกระรอกบินชนิดใหม่ (*Belomys thamkaewi)* ที่มีลักษณะเหมือนกับกระรอกบินเท้าขน (*Belomys pearsonii)* แต่มีขนาดใหญ่กว่าราว 50% ครั้งนี้ อาจเนื่องมาจาก 2 สมมติฐาน ได้แก่ วิวัฒนาการเฉพาะถิ่นของกระรอกบินเท้าขนที่เกิดขึ้นในช่วงปลายยุคไพลสโตซีนซึ่งเป็นยุคน้ำแข็งแล้วสูญพันธุ์ไป หรือ กระรอกบินชนิดใหม่นี้มีพื้นที่อาศัยอยู่ทางตอนเหนือ ได้แพร่กระจายลงมาทางใต้ในช่วงปลายไพลสโตซีนตอนกลางเมื่อมีสภาพภูมิอากาศหนาวเย็นและแห้งแล้ง หลังจากภูมิอากาศอบอุ่นขึ้น สัตว์ชนิดนี้ก็สูญพันธุ์ไป

ผลการค้นพบครั้งนี้ได้นำเสนอในวารสาร Mammalia เป็นวารสารสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมของฝรั่งเศส ผลงานเรื่อง "A new flying squirrel *Belomys thamkaewi* n. sp. (Mammalia: Rodentia) from the Pleistocene of West Thailand and its biogeography" ปี 2543, ฉบับที่ 64 (3) หน้า 307-318

***การวิวัฒนาการ (Evolutionary Lineage) ของ Maxomys–Ratchaburimys***

การค้นพบ evolutionary lineage เป็นเรื่องที่ค่อนข้างน่าสนใจ เนื่องจากเป็นสิ่งแสดงให้ทราบถึงการวิวัฒนาการของสัตว์บางชนิดที่เปลี่ยนแปลงไปโดยได้รับแรงกดดันจากสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไป หรือโดยการแข่งขันเพื่อความอยู่รอด *Ratchaburimys* ซึ่งเป็นหนูที่มีชีวิตอยู่ในช่วงยุคไพลโอซีน (5-1.8 ล้านปี) ปัจจุบันสูญพันธุ์ไปแล้ว มีลักษณะพิเศษคือ มีฟันที่ใช้สำหรับกินแมลง จึงอาศัยอยู่ตามทุ่งหญ้า การค้นพบฟอสซิลของ *Ratchaburimys* ที่มีการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างและขนาดต่อเนื่องในช่วงเวลาดังกล่าว แสดงถึงการพยายามปรับตัวของสัตว์ชนิดนี้ สิ่งที่น่าสนใจอีกประเด็นหนึ่งคือ การที่พบว่า *Ratchaburimys* มีความสัมพันธ์ต่อเนื่องกับหนูฟาน (*Maxomys*) จากการศึกษาโดยหลายวิธีทั้ง Immunological distances (Watts and Baverstock, 1994) และทางด้าน repeated DNA L1 (Line 1) transposor (Verneau et al., 1997, 1998) พบว่าหนูฟานเป็นพวกแรกก่อนที่จะวิวัฒนาการมาเป็นหนูพวก *Rattus* senso lato (หนู Murinae ส่วนใหญ่ที่พบในประเทศไทย เช่น *Rattus, Leopoldamys, Niviventer, Berylmys, Sundamys* และ *Bandicota*) และจากการศึกษาลักษณะฟันของหนูทั้ง 2 ชนิด พบว่ามีลักษณะหลายอย่างคล้ายคลึงกัน สิ่งที่น่าสนใจคือ หนู *Ratchaburimys* พยายามปรับตัวเองจนกลายเป็นหนูประจำถิ่น (endemic) และสูญพันธุ์ไปในช่วงยุคน้ำแข็ง (Pleistocene) แต่หนูฟานยังคงมีชีวิตต่อมาจนปัจจุบันนี้

การค้นพบครั้งนี้กำลังจัดเตรียมเพื่อตีพิมพ์เผยแพร่ เรื่อง "The evolutionary lineage of *Maxomys-Ratchaburimys* (Rodentia: Muridae) significance for biochronology"

***ลิง (Macaca)***

การค้นพบฟอสซิลหัวกระโหลกลิงที่ครบสมบูรณ์พร้อมฟันจากแหล่งเขาคันหอก อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรีครั้งนี้ถือว่าเป็นหลักฐานสำคัญในการค้นหากำเนิดของลิงมีหางจำพวก (Cercopithecidae) ในทวีปเอเชีย เนื่องจากหลักฐานการค้นพบฟอสซิลลิงในภูมิภาคนี้ยังมีน้อยมาก และการค้นพบส่วนใหญ่จะเป็นเพียงชิ้นส่วนของฟันที่พบเพียงซี่เดี่ยวๆ ไม่สมบูรณ์ หลักฐานการค้นพบฟอสซิลต้นกำเนิดของลิงกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มาจากทวีปอาฟริกา ฟอสซิลที่เก่าแก่ที่สุดพบที่ประเทศเคนยา ได้แก่ *Victoriapithecus* และ *Prohylobates* จากประเทศอียิปต์ ในช่วงยุคไมโอซีนตอนกลาง หรือราว 15 ล้านปี นอกจากนี้ในช่วง 3 ล้านปีก่อนพบฟอสซิล *Theropithecus* แพร่หลายอยู่ทั่วในทวีปอาฟริกา แต่ปัจจุบันลิงชนิดนี้พบอาศัยอยู่เฉพาะบริเวณที่ราบสูงในประเทศเอธิโอเปียเท่านั้น

การศึกษารายละเอียดทางกายภาพ เช่น การศึกษารูปร่างกระโหลก ฟัน และขนาดทั้งหมดโดยรวม นอกจากนี้ยังได้ใช้วิธี 3D morphometrical analysis โดยเปรียบเทียบกับกะโหลกลิงปัจจุบันหลายชนิด พบว่าฟอสซิลที่ค้นพบครั้งนี้มีรูปร่างไม่ต่างจากลิงปัจจุบันมากนัก แต่มีขนาดใหญ่กว่าลิงปัจจุบันมาก จากขนาดของฟันที่วัดได้เมื่อนำไปหาน้ำหนักตัวโดยวิธีของ Gingerich et al. (1980) พบว่ามีน้ำหนักราว 22 กก. ในขณะที่ลิงปัจจุบันมีน้ำหนักราว 15 กก. เท่านั้น

สัตว์ที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติส่วนใหญ่พบเมื่ออยู่บนเกาะเท่านั้น (Island isolation) แต่การค้นพบฟอสซิลครั้งนี้ไม่สามารถอธิบายโดยใช้หลักการดังกล่าวได้ สาเหตุอื่นน่าจะเนื่องมาจากการระบบนิเวศวิทยาที่เปลี่ยนแปรหรือไม่มีการแข่งขันกับลิงชนิดอื่น

การค้นพบฟอสซิลลิงที่มีอายุไพลโอซีนตอนปลาย หรือราว 3 ล้านปีครั้งนี้ สามารถเป็นประเด็นปัญหาหลายอย่าง ได้แก่ ลิงชนิดนี้อาจเป็นลิงทางตอนเหนือได้เคลื่อนย้ายมาทางใต้เนื่องจากภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง หรือเป็นลิงชนิดที่สูญพันธุ์ไปแล้ว ถ้าเป็นลิงชนิดใหม่จะสามารถอธิบายความสัมพันธุ์กับฟอสซิลชนิดอื่นที่ค้นพบในบริเวณนี้ได้อย่างไร และสามารถบอกสภาพแวดล้อม และสภาพภูมิอากาศยุคนั้นได้อย่างไร วิวัฒนาการของลิงชนิดนี้เกี่ยวเนื่องมายังลิงปัจจุบันหรือไม่ การศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมโดยวิธีการอื่น เช่น การศึกษาร่องรอยสึกหรอบนเคลือบฟัน (microstriation) เพื่อทราบอาหารการกินของลิงชนิดนี้ การศึกษาชิ้นส่วนของกระดูกที่พบเพื่อทราบรายละเอียดการใช้

ชีวิตของลิงชนิดนี้ การเคลื่อนไหว การเดิน จะสามารถเป็นตัวชี้นำให้ทราบวิวัฒนาการของสัตว์ชนิดนี้ได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การศึกษารายละเอียดของสัตว์กัดแทะที่พบในบริเวณเดียวกันจะช่วยไขปริศนาดังกล่าวได้เป็นอย่างดี

การศึกษาครั้งนี้กำลังจัดเตรียมเพื่อตีพิมพ์เผยแพร่ เรื่อง “The first complete monkey skull (Primates: Cercopithecidae) from Pliocene fissure filling of Thailand”

**สภาพแวดล้อมโบราณและสภาพภูมิอากาศ (Paleoenvironment and Paleoclimate)**

จากการศึกษาฟอสซิลสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กโดยเฉพาะสัตว์กัดแทะ ทำให้เราทราบความเปลี่ยนแปลงของสัตว์กลุ่มนี้ในช่วงเวลาต่างๆ ในอดีต ซึ่งสืบเนื่องจนถึงปัจจุบันได้เป็นอย่างดี ทำให้ทราบถึงพื้นที่การแพร่กระจายในอดีตของสัตว์แต่ละชนิด การเปลี่ยนแปลงพื้นที่อยู่อาศัย และการปรับตัว รวมถึงวิวัฒนาการของสัตว์เหล่านี้ การเปลี่ยนแปลงทั้งหลายที่เกิดขึ้นมีผลมาจากสภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง สัตว์กัดแทะที่มีอยู่ในปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงที่ค่อนข้างรวดเร็วและมีความไวต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงสูง ได้แก่ สัตว์จำพวกหนู ส่วนสัตว์กัดแทะที่เปลี่ยนแปลงค่อนข้างช้าแม้สภาพแวดล้อมจะเปลี่ยนแปลงไปได้แก่ พวกกระรอก

สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยในช่วงยุคไพลโอซีน ค่อนข้างแห้งแล้ง มีทุ่งหญ้าสลับพื้นที่ป่า เนื่องจากพบหนูหลายชนิดที่แสดงถึงพื้นที่อยู่อาศัยแบบทุ่งหญ้า เช่น *Ratchaburimys, Saidomys* และ *Prohadromys* ต่อมาเข้าสู่ยุคไพลสโตซีน พื้นที่ป่าจะมีเพิ่มมากขึ้นและบางช่วงมีอากาศหนาวเย็น โดยพบกระรอกบินและพบหนู *Hadromys humei* จนเมื่ออากาศอบอุ่นขึ้นพื้นที่ป่าเพิ่ม หนูบางชนิด เช่น ในกลุ่ม *Rattus* sensu lato ประสบความสำเร็จและมีความหลากหลายสูงดังเช่นปัจจุบันนี้

ตารางที่ 2. ตารางแสดงความสัมพันธ์ของอายุ แหล่งฟอสซิล และฟอสซิลหลัก

| Time (Ma) | Epoch | Age | Localities | Fauna | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.018 | Holocene | | | | | | |
| | Pleistocene | Late | | | | | |
| 0.125 | | Middle | Crystal Cave<br>Khao Tamon 2 | | | | *Hadromys* |
| 0.78 | | Early | Khao Tamon 1 | *R.* n. sp. (larger) | | *P.* n. sp. (larger) | |
| 1.8 | Pliocene | Late | Khao Samngam<br>Khao Anghin | *Ratchaburimys* | *Saidomys* | *Prohadromys* | |
| 3.6 | | Early | Khao Khan Hok<br>(Monkey&Breccia 98) | *R.* n. sp. (smaller) | *S.* n. sp. (smaller) | | |
| 5.2 | | | | | | | |

**ลำดับชั้นชีวภาพ (Biostratigraphy)**

จากกลุ่มฟอสซิลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เรานำมาจัดหาอายุสัมพันธ์ (relative age) โดยอาศัยลักษณะวิวัฒนาการของฟอสซิลบางชนิดที่สามารถพบความเปลี่ยนแปลงได้มาเปรียบเทียบกัน และดูจากกลุ่มฟอสซิลที่สูญพันธุ์และยังมีอยู่จนถึงปัจจุบันนี้ ทำให้ทราบอายุคร่าวๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

**บทสรุป**

ผลการศึกษาครั้งนี้เป็นที่น่าพอใจเนื่องจากพบแหล่งสะสมตัวเพิ่มขึ้นหลายแหล่ง และพบฟอสซิลชนิดใหม่เพิ่มขึ้นหลายชนิด ฟอสซิลเหล่านี้เป็นหลักฐานสำคัญที่บ่งชี้ให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงทางสภาพอากาศและสภาพแวดล้อมในช่วงต่างๆ ได้เป็นอย่างดี การค้นพบ evolutionary lineage ของฟอสซิลหนูบางชนิดในครั้งนี้ เป็นการค้นพบใหม่ที่สำคัญ เนื่องจากโดยทั่วไปหลักฐานที่เป็นฟอสซิลยืนยันแน่ชัดหาพบได้น้อยมากมีเพียงสมมติฐานเท่านั้น การขยายพื้นที่ทำการศึกษา โดยศึกษาเพิ่มเติมบริเวณแนวเทือกเขาทางด้านตะวันตกของประเทศไทย ซึ่งเป็นบริเวณแนวเขาที่ต่อเนื่องจากเทือกเขาหิมาลัยลงไปจนถึงแหลมมลายูน่าจะช่วยไขปริศนาต่างๆ ได้มากมาย เนื่องจากในอดีตเมื่อเกิดสภาพอากาศหนาวเย็น บริเวณนี้ถูกใช้เป็นเส้นทางในการอพยพเคลื่อนย้ายของสัตว์หลายชนิด เพื่อลงมาหาบริเวณที่เหมาะสม และน่าจะมีการค้นพบฟอสซิลสัตว์ชนิดใหม่ๆ ในบริเวณนี้เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ การค้นหาแหล่งสะสมตัวของฟอสซิลในบริเวณใกล้กับบริเวณคอคอดกระ เพื่อศึกษาชนิดของสัตว์ที่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำทะเลในยุคน้ำแข็งก็เป็นเรื่องที่น่าสนใจ เนื่องจากพบว่าสัตว์ปัจจุบันหลายประเภทที่อยู่เหนือคอคอดกระต่างกับสัตว์ที่พบใต้คอคอดกระ ในอดีตบริเวณที่เป็นแนวแบ่งนี้อยู่ที่ไหน เหตุการณ์นี้เกิดขึ้นเมื่อไร และเกิดขึ้นกี่ครั้งแล้ว

ในอดีต และเพื่อทราบสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงในอดีตจากฟอสซิลสัตว์ที่ค้นพบเหล่านี้ การหาอายุที่แน่นอนโดยหลายๆ วิธีมีความสำคัญมาก ในการใช้ประกอบกับการตีความหมายของฟอสซิลที่พบเหล่านี้

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมมือจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 140033 และกรมทรัพยากรธรณี

## เอกสารอ้างอิง

Chaimanee, Y. 1998. Plio-Pleistocene rodents of Thailand. Thai Studies in Biodiversity No. 3. Biodiversity Research and Training Program (BRT). 300 p.

Chaimanee, Y. and J.-J. Jaeger. 1993. Pleistocene mammals of Thailand and their use in the reconstruction of the paleoenvironments of Southeast Asia. *SPAFA* 3 (2): 4-10.

Chaimanee, Y. and J.-J. Jaeger. 1998. Plio-Pleistocene rodents of Thailand and their utility for biochronology and paleoenvironments. *In* GEOSEA IX pp. 184. Geological Society of Malaysia, Malaysia.

Chaimanee, Y. and J.-J. Jaeger. 2000a. A new flying squirrel *Belomys thamkaewi* n. sp. (Mammalia:Rodentia) from the Pleistocene of West Thailand and its biogeography. *Mammalia* 64 (3): 307-318.

Chaimanee, Y. and J.-J. Jaeger. 2000b. Occurrence of *Hadromys humei* (Rodentia: Muridae) during the Pleistocene in Thailand. *Journal of Mammalogy* 81 (3): 659-665.

Chaimanee, Y., J.-J. Jaeger and V. Suteethorn. 1993a. Pleistocene microvertebrates from fissure-fillings in Thailand. *Journal of Southeast Asian Earth Sciences* 8 (1-4): 45-48.

Chaimanee, Y., J.-J. Jaeger and V. Suteethorn. 1993b. Pleistocene micromammals of Thailand: contribution to paleoenvironmental changes, biochronology and biodiversity. *In* T. Thanasuthipitak (ed.), pp. 125-136. Int. Symp. on Biostratigraphy of Mainland Southeast Asia: Facies & Paleontology, (Chiangmai University, Chiang Mai, Thailand).

Chaimanee, Y., V. Suteethorn, S. Triamwichanon and J.-J. Jaeger. 1996. A new stephanodont Murinae (Mammalia, Rodentia) from the early Pleistocene of Thailand and the age and place of the *Rattus* adaptive radiation in South East Asia. *C. R. Acad. Sci. Paris* 322 (Serie II a): 155-162.

Corbet, G. B. and J. E. Hill. 1992. The mammals of the Indomalayan region: a systematic review. Oxford University Press, Oxford.

Dehm, R. V. 1962. Altpleistocane Sauger von Schernfeld bei Eichstatt in Bayern. *Mitt. Bayer. Staatssamml. Palaont. Hist. Geol.* 2: 17-61.

Gingerich, P. D., B. H. Smith and K. Rosenberg. 1980. Patterns of allometric scaling in the primate dentition and prediction of body size from tooth size. *American Journal of Physical Anthropology.* 52: 231-232.

James, G. T. and B. H. Slaughter. 1974. A primitive new Middle Pliocene murid from Wadi el Natrum, Egypt. *Annual Geological Survey Egypt, Cairo* 4: 333-362.

Lekagul, B. and J. A. McNeely. 1977. Mammals of Thailand. Association for the Conservasion of Wildlife, Kulusapa, Bangkok.

Marshall, J. T. 1976. Family Muridae: Rats and Mice. Privately printed by the government Printing Office, Bangkok: 396-487.

McKenna, M. C. 1962. *Eupetaurus* and the livng petauristine Sciurids. *American Museum Novitates* 2104: 1-38.

Misonne, X. (1969): African and Indo-Australian Muridae: Evolutionary trends. *Annales Musee Royal de l'Afrique Centrale, Tervuren, Belgique* 172, 1-219.

Musser, G. G. 1972. The species of *Hapalomys* (Rodentia, Muridae). *American Museum Novitates* 2503: 1-27.

Musser, G. G. 1987. The occurrence of *Hadromys* (Rodentia: Muridae) in Early Pleistocene Siwalik Strata in Northern Pakistan and its bearing on biogeographic affinities between Indian and Northeastern African Murine faunas. *American Museum Novitates* 2883: 1-36.

Musser, G. G. and M. D. Carleton. 1993. Family Muridae. *In Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic references*, pp. 501-755, Smithsonian Institution Press, Washington and London.

Robinson, M. F., A. L. Smith and S. Bumrungsri. 1995. Small mammals of Thung Yai Naresuan and Huai Kha Khaeng wildlife sanctuaries in Western Thailand. *Natural History Bulletin Siam Society* 43: 27-54.

Sen, S. 1983. Rongeurs et lagomorphes du gisement pliocéne de Pul-e Charkhi, bassin de Kabul, Afghanistan. *Bulletin Museum Natural Hisistoire National, Paris* Serie *5,* 5 (1): 33-74.

Slaughter, B. H. and G. T. James. 1979. *Saidomys natrunensis*, an arvicanthine rodent from the Pliocene of Egypt. *Journal of Mammology* 60 (2): 421-425.

Verneau, O., F. Catzeflis and A. V. Furano. 1997. Determination of the evolutionary relationships in *Rattus* sensu lato (Rodentia: Muridae) using L1 amphification events. *Journal of Molecular Evolution* 45: 424-436.

Verneau, O., F. Catzeflis and A. V. Furano. 1998. Determining and dating recent rodent speciation events by using L1 (LINE-1) retrotransposons. *Proceedings of National Academy of Science, U.S.A.* 95: 11284-11289.

Watts, C. H. S. and P. R. Baverstock. 1994. Evolution in some South-east Asian Murinae (Rodentia), as assessed by microcomplement fixation of albumin, and their relationship to Australian Murines. *Australian Journal of Zoology* 42: 711-722.

Winkler, A. J. 1997. Systematics, paleobiogeography, and paleoenvironmental significance of rodents from the Ibole Member, Manonga Valley, Tanzania. *In* T. Harrison, (ed.), pp. 311-332. Neogene Paleontology of the Mononga Valley, Tanzania, Volumn 14 of Topics in Geobiology, Plenum Press, New York.

# ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการทางนิเวศวิทยาต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน

**นันทกร บุญเกิด[1], หนึ่ง เตียอำรุง[1], สมพร ชุณเหลือชานนท์[2], เศรษฐา ศิริพินท์[3], สมศักดิ์ โคตรพงศ์[4] และอัจฉรา นันทกิจ[4]**

[1]สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ. เมือง นครราชสีมา 30000

[2]ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง เชียงใหม่ 50202

[3]ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ. สันทราย เชียงใหม่ 50290

[4]กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

**Abstract: Effect of Different Ecosystem Processes on Populations of Nitrogen Fixing Bacteria**

The effects of different ecosystem processes on different $N_2$-fixing microbes was investigated by determining population numbers, population dynamics and appropriate habitats as well as genetic diversities. Microbial strains were isolated from various soil samples collected from the North, Central and North-East of Thailand from July 1997 to November 1999. Site selections and soil sample collection in each region were from the highest elevation at the top of mountains, in the middle and foot hills of mountains to the flat areas used for the agricultural practices of field crop cultivation, rice cultivation, rice in rotation with other crops and uncultivated areas. For the purpose of determining the effects on the population of each group of these bacteria upon changing the environment and cropping system, soil samples were also collected from undisturbed forest, forest cleared for crop cultivation for 1, 2 and 3 years and from areas where intensive agricultural production using high rates of pesticides and fertilizers on vegetables was proctised. In the case of rhizobia, it was found that the highest populations persisted at the foot hills of the mountains and under agricultural areas with of rice in rotation with leguminous plants. The important factors affecting populations were temperature and moisture. The most unsuitable area for rhizobia was that used for vegetable cultivation. In this area we found low amounts or undetectable of rhizobial populations. The dominant native genus was *Bradyrhizobium* sp. which mainly nodulate cowpeas not soybean. When these strains were analysed using RAPD-PCR, the results suggested that these groups of *Bradyrhizobia* were closely related. For cyanobacteria, the most suitable ecosystem was rice and rice in rotation with other crops. The important factors affecting the population were temperature, moisture and organic matter. Most $N_2$-fixing cyanobacterial strains found in this study were heterocystous in form. The dominant genera were *Nostoc* and *Anabaena.* By using a combination of DAF8.7b, DAF10.6F- and STRR-PCR analyses, we found the great diversity among the genera. For the free-living $N_2$-fixing bacterial group the most suitable area was agricultural cultivation. In addition, changing seasons did not effect population dynamics except in the rainy season which could promote higher growth. Most $N_2$-fixing bacteria were gram negative. The two important genera mainly found were *Azopirillum* and *Azomonas* which were able to persist across the seasons throughout this study. In terms of the biodiversity of this group, we found very high divergence at both geneic and species levels. This was confirmed by analyses of *nif*D-PCR patterns which could be differentiated into 48 different groups. In addition, in each of these groups a high diversity was found when ERIC-PCR analysis was used.

**Key words:** biological nitrogen fixation, microorganisms, ecosystem

## บทนำ

สิ่งที่มีชีวิตทุกชนิดต้องการไนโตรเจนเพื่อการดำรงชีวิต เพราะเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของโปรตีนทุกชนิด แต่ไนโตรเจนที่อยู่ในโลก นั้น 98% อยู่ในชั้นหินที่ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ส่วนที่เหลืออีก 2% สามารถใช้ประโยชน์ได้ แต่จะอยู่ในรูปแก๊ส 99.96% ส่วนประกอบของฮิวมัส 0.20% ส่วนประกอบของสารอินทรีย์ที่ก้นทะเล 0.01% และในสิ่งที่มีชีวิต เช่น พืช สัตว์ และจุลินทรีย์อีก 0.005% (Aldrich, 1980) ไนโตรเจนที่อยู่ในอากาศจะมีถึง 78% ทั้งพืชและสัตว์ไม่สามารถนำมาใช้ได้โดยตรง จะต้องผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีให้เกิดเป็นสารประกอบไนโตรเจนเสียก่อน ที่ทราบกันดีคือ ในรูปของปุ๋ยไนโตรเจน การสังเคราะห์ปุ๋ยไนโตรเจนมีขึ้นครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ.1921 โดยตรึงแก๊สไนโตรเจน ($N_2$) จากอากาศเพื่อให้เกิดแอมโมเนีย ($NH_3$) เป็นการรวม $N_2$ กับแก๊ส $H_2$ ภายใต้อุณหภูมิสูง 400-500 °C และความดัน 100-200 บรรยากาศ การผลิตต้องทำในโรงงานอุตสาหกรรมซึ่งมีราคาแพงและใช้พลังงานสูง จึงทำให้มีต้นทุนการผลิตสูง

เป็นผลให้ปุ๋ยไนโตรเจนดังกล่าวมีราคาแพง กระบวนการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนอีกวิธีหนึ่ง โดยตรึงแก๊สไนโตรเจนเช่นกัน แต่ใช้พลังงานต่ำ และมี enzyme ที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตเป็นตัวรวม $N_2$ กับ $H_2$ ให้เป็น $NH_3$ และใช้พลังงานในรูป ATP ซึ่งกระบวนการนี้เรียกว่า กระบวนการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation หรือ BNF) และ enzyme ที่สามารถรวม $N_2$ และ $H_2$ เรียกว่า nitrogenase enzyme ซึ่งมีอยู่ในจุลินทรีย์พวก prokaryote บางชนิดเท่านั้น เช่น bacteria, cyanobacteria และactinomycete จุลินทรีย์ดังกล่าวบางชนิดสามารถอยู่ในดินโดยอิสระ และบางชนิดจะต้องอยู่รวมกับพืชจึงจะสามารถตรึงไนโตรเจนได้ จุลินทรีย์ในดินโดยอิสระมี aerobic และ anaerobic ทั้งที่อาศัยอยู่ในน้ำและบนบก ส่วนพวกที่อยู่ร่วมกับพืชก็มีทั้งที่เป็นพืชน้ำขนาดเล็กจนถึงพืชไร่บนบก และไม้ป่าชนิดต่างๆ

กระบวนการ BNF เป็นกระบวนการที่สำคัญและควรให้ความสนใจอย่างยิ่ง เพราะถ้าจัดการให้ถูกต้องจะสามารถจัดหาปริมาณไนโตรเจนให้แก่สิ่งที่มีชีวิตได้อย่างเพียงพอ พิสูจน์ได้จากการที่ป่าดงดิบยังคงมีความอุดมสมบูรณ์แม้ไม่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน Burns and Hardy (1975) ได้ประเมินไว้ว่าจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนสามารถผลิตไนโตรเจนให้แก่โลกได้ถึง 170 ล้านตันต่อปี กลุ่มจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนโดยอิสระประกอบด้วย bacteria และ cyanobacteria ในกลุ่ม bacteria มีประมาณ 26 สกุล (genera) เป็น aerobic 4 สกุล และ anaerobic 22 สกุล สำหรับกลุ่ม cyanobacteria มี 23 สกุล โดยส่วนใหญ่เป็น aerobic (Burns and Hardy, 1975) การศึกษาเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรมีการกระทำมากในกลุ่ม aerobic bacteria ได้แก่ *Azotobacter, Azospirillum* และ *Klebsiella* ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงนั้นมีความแตกต่างกัน Wani et al. (1985) ได้ทดลองกับข้าวฟ่างพบว่าบางครั้งสามารถเพิ่มผลผลิตได้ถึง 33% แต่บางครั้งก็ไม่มีความแตกต่างกัน ในทางตรงกันข้าม Okon and Kapulnik (1986) พบว่าในดินที่มีความสมบูรณ์ต่ำ *Azospirillum* spp. สามารถเพิ่มผลผลิตของธัญญพืชได้ผลทุกครั้ง ซึ่งเขาสันนิษฐานว่าผลที่ได้คงไม่ใช่จากการตรึงไนโตรเจน แต่เป็นการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตให้พืช เช่น Gibberelin, Cytokinin และ Auxin (Tien et al., 1979) แต่ Malik and Bital (1989) ยืนยันว่าเกิดจากการตรึงไนโตรเจนแน่นอน เพราะพบว่าหญ้า Kalla เมื่อมีการ inoculate ด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้สามารถตรึงไนโตรเจนได้ถึง 40-70% เศรษฐาและคณะ (2539) รายงานว่าผลของการใส่เชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนกลุ่ม *Azospirillum* และ *Kleblosiella* ทำให้หญ้าแฝกหอมสายพันธุ์สุราษฎร์ธานีสร้างปริมาณรากแขนงเพิ่มขึ้นอย่างมาก ส่งผลให้หญ้าแฝกมีการสร้างมวลชีวภาพมากกว่าการไม่ใส่เชื้อ ในสภาพดินที่ไม่มีการรบกวน เช่น ที่รกร้างว่างเปล่า สวนสาธารณะ และป่าไม้ จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอิสระมีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนไนโตรเจนจากอากาศลงสู่ดิน เพราะสารอินทรีย์จากการผุพังของชิ้นส่วนของพืชจะกระตุ้นให้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ตรึงไนโตรเจนให้มากขึ้น (Ladha and Boonkerd, 1988) ดังนั้น ถ้ามีการจัดการที่ดีเพื่อเอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ทำงานดีขึ้น ก็สามารถรักษาสภาพดินให้มีความอุดมสมบูรณ์อยู่ได้ ในกลุ่ม Cyanobacteria ที่ตรึงไนโตรเจนได้มีการพยายามหาวิธีนำมาใช้ประโยชน์ และพบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Anabaena, Nostoc* และ *Calothix* สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง Roger et al. (1992) รายงานว่า cyanobacteria สามารถตรึงไนโตรเจนให้แก่ข้าวได้ประมาณ 10-20 Kg N/ha และส่วนใหญ่เป็นสกุล *Nostoc, Anabaena* และ *Calothix*

จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชในปัจจุบันนี้มีการจำแนกอยู่ 2 สกุลใหญ่ๆ คือ Rhizobium และ Bradyrhizobium (Jordan, 1984) ในที่นี้จะเรียกรวมว่าไรโซเบียมซึ่งแต่เดิมนั้นมีเพียงชื่อเดียว การจำแนก species ของไรโซเบียมส่วนใหญ่จะแยกตามลักษณะความสามารถในการสร้างปมได้กับชนิดของพืชตระกูลถั่วที่อาศัยอยู่ เช่น *Bradyrhizobium japonicum* จะสร้างปมรากและตรึงไนโตรเจนร่วมเฉพาะกับถั่วเหลืองโดยทั่วไปจะใช้ *Bradyrhizobium* spp. และถ้าเฉพาะกับถั่วอะไรก็ใส่ชื่อถั่วลงไปใน Rhizobium เช่น *Rhizobium leguminosarum* จะรวมกลุ่มถั่วลันเตาและถั่วแดงหลวง *(Phesiorus vulgaris) Rhizobium mililoti* เป็นถั่วอาหารสัตว์ เช่น alfalfa, *Rihzobium trifolii* เป็นถั่ว trifolium พืชอาหารสัตว์นี้ส่วนใหญ่จะเป็นพืชถั่วในเขตอบอุ่น ในแต่ละ species ของไรโซเบียม และเฉพาะแต่ละถั่วจะมีความแตกต่างกันในด้านการตรึงไนโตรเจนจึงสามารถแยกย่อยอีกเรียกว่า strain จากการวิจัยการใช้ประโยชน์พบว่าถั่วแต่ละชนิดจะมีไรโซเบียมที่มีความสามารถตรึงไนโตรเจนได้ต่างๆ กัน (Boonkerd and Promsiri, 1993; Kucey et al., 1988) และในสภาพแวดล้อมต่างกันก็มีอิทธิพลต่อความเป็นอยู่ของไรโซเบียมด้วย (Boonkerd and Weaver, 1982; Weaver et al., 1987) และ Boonkerd et al. (1993) ยังพบว่าอิทธิพลของระบบการปลูกพืชมีส่วนเกี่ยวข้องกับประชากรของไรโซเบียม และความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม

ใน cyanobacteria ที่อยู่ร่วมกับพืชพบว่ามีเพียง 2 สกุล คือ *Anabaena* และ *Nostoc* สำหรับ *Anabaena* ที่อาศัยร่วมกับพืช ได้แก่ แหนแดง (*Azolla*) และ *Anabaena* ได้แก่ Anabaena azollae สำหรับ Nostoc พืชที่พบขณะนี้ได้แก่ พวกปรง (cycad) และไลเคน มักพบอยู่ในป่าชื้น การใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรส่วนใหญ่จะใช้แหนแดงผลิตปุ๋ยไนโตรเจนในนาข้าว การวิจัยส่วนใหญ่จึงเป็นเรื่องการตรึงไนโตรเจนกับแหนแดงซึ่งมีหลาย species (Choonluchanon et al., 1988) จุลินทรีย์ในกลุ่ม actinomycete มีเพียง genus เดียวที่พบว่ามีการตรึงไนโตรเจนและเฉพาะกับพืชเท่านั้นคือ *Frankia* พืชส่วนใหญ่เป็นไม้ยืนต้นที่เป็นป่าไม้ในเขตอบอุ่น สำหรับในเขตร้อนที่พบมีเพียงสกุลเดียวคือ *Casuarina* ได้แก่ สนประดิพัท และสนทะเล (Boonkerd and Baker, 1989) จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้สูงมาก และสามารถที่จะปลดปล่อยไนโตรเจนที่เหลือให้แก่พืชข้างเคียงได้ ดังจะเห็นได้จากป่าธรรมชาติที่สมบูรณ์ เพราะประมาณ 60% ของไม้ป่าจะมีพวกที่ตรึงไนโตรเจนได้ร่วมอยู่ด้วย เช่น ในเขตร้อนคือ พืชตระกูลถั่ว และเขตอบอุ่นคือ actinorhizal plant มี *Frankia* อาศัยอยู่

ในกลุ่มจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนโดยอิสระถึงแม้ว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเฉพาะตัวจะไม่มากนัก แต่เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีอยู่มากมายทั่วทุกแห่ง การเพิ่มและลดของประชากรมีผลต่อการปลดปล่อยไนโตรเจนลงสู่ดินอย่างต่อเนื่อง และในระยะยาวมีการสะสมได้มากพอควร ซึ่งถ้าได้มีการจัดการให้จุลินทรีย์ดังกล่าวมีอยู่ในดินในปริมาณที่เหมาะสมย่อมเกิดผลดีเป็นอย่างยิ่ง แต่การปฏิบัติในปัจจุบันไม่เอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ดำรงชีวิตอยู่ได้ เช่น พื้นที่เกิดความแห้งแล้ง อุณหภูมิสูง ขาดอินทรีย์วัตถุซึ่งเป็นอาหารสำคัญของจุลินทรีย์ต่างๆ เหล่านี้ เป็นต้น พืชมีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียกลุ่มนี้มาก เพราะแบคทีเรียต้องการสารอินทรีย์ที่พืชปลดปล่อยออกมาทางราก (Okon and Kapulnik, 1986 และ Ishac et al. 1986) อินทรีย์วัตถุในดิน 2-4% จะสามารถทำให้ปริมาณประชากรเพิ่มขึ้น ความแห้งแล้ง ความเป็นกรด-ด่างของดิน มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช จุลินทรีย์ในกลุ่ม cyanobacteria ส่วนมากชอบอาศัยอยู่ในที่ชื้น มีอยู่ประมาณ $1x10^2$ ถึง $8x10^6$ cells ต่อดิน 1 กรัม pH ของดิน และ available P มีอิทธิพลต่อประชากรจุลินทรีย์กลุ่มนี้ Roger et al. (1987); และ Reddy and Roger (1988) รายงานว่าความแห้งแล้งมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของ cyanobacteria บางสายพันธุ์ไม่สามารถที่จะมีชีวิตอยู่ได้ ดังนั้น การนำไปใช้ประโยชน์จึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาถึงลักษณะและศักยภาพของแต่ละสายพันธุ์

นอกจากนั้นพบว่า ความแห้งแล้งมีผลต่อประชากรของไรโซเบียม คือ ถ้าอุณหภูมิสูงปริมาณของไรโซเบียมในดินจะลดลงอย่างรวดเร็ว Boonkerd and Weaver (1982) และ Graham and Parker (1964) รายงานว่า pH ของดินมีผลต่อการมีชีวิตของไรโซเบียมในดิน ไรโซเบียมที่เจริญช้าจะทนกรดได้ดีกว่ากลุ่มที่เจริญเร็วในสภาพน้ำท่วมขัง ซึ่งส่วนใหญ่แล้วปริมาณไรโซเบียมจะลดลง (Weaver et al., 1987)

สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนแต่ละกลุ่ม พลวัตของประชากรจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบการปลูกพืช และในระบบธรรมชาติที่ไม่ถูกรบกวน การเปลี่ยนแปลงของกระบวนการทางระบบนิเวศต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ และความเกี่ยวเนื่องของพันธุกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มเดียวกันที่อยู่ในสภาวะแวดล้อมต่างกัน

## วิธีการ

### *การเลือกสถานที่และเก็บตัวอย่าง*

เนื่องจากจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนมีอยู่ทั่วทุกแห่งตั้งแต่ระดับภูเขาสูงจนถึงที่ราบลุ่ม ดังนั้น เพื่อให้ได้ตัวแทนของสภาพแวดล้อมครอบคลุมมากที่สุดจึงแบ่งพื้นที่ศึกษาออกเป็น 3 ภาค คือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

*ภาคเหนือ:* เลือกเทือกเขาอินทนนท์ จ.เชียงใหม่ โดยเลือกจุดศึกษา 3 จุด ได้แก่ จุดที่ 1 บนยอดสูงสุด จุดที่ 2 ระดับส่วนกลาง จุดที่ 3 พื้นที่เชิงเขา และจุดที่ 4 พื้นที่ทำการเกษตรและที่รกร้างว่างเปล่า ซึ่งมี 4 ลักษณะ คือ พื้นที่ที่ทำการเพาะปลูกพืชไร่อย่างต่อเนื่อง พื้นที่ทำการปลูกข้าวอย่างต่อเนื่อง พื้นที่ที่มีการปลูกพืชไร่สลับข้าว และพื้นที่รกร้างว่างเปล่า *ภาคกลาง:* เลือกพื้นที่ จ.สระบุรี หรือนครสวรรค์ที่มีเทือกเขาหินปูน และ *ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ:* เลือกพื้นที่เทือกเขาใหญ่ที่ จ.นครราชสีมา โดยจุดที่ศึกษาดำเนินการเช่นเดียวกับที่ จ.เชียงใหม่ และในแต่ละจุดที่กำหนดนั้นทำการเก็บตัวอย่างดิน 4 จุด โดยมีระยะทางที่ห่างกันพอสมควรเพื่อให้ครอบคลุมลักษณะตัวแทนของจุดเลือกนั้นๆ เก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน เป็นเวลา 30 เดือน และเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ทำการเพาะปลูก และพื้นที่ใกล้เคียง

ที่ยังไม่มีการเพาะปลูก เพื่อให้ทราบถึงประชากรจุลินทรีย์ที่ยังอยู่ในสภาพเดิม นอกจากนี้ เก็บตัวอย่างในพื้นที่เพาะปลูกที่มีการใช้ปุ๋ย ยาปราบศัตรูพืชและวัชพืช เช่น พื้นที่ทำการปลูกผักต่างๆ ภาคละ 3 แห่ง ทำการเก็บตัวอย่างปีละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 3 ปี

***การวิเคราะห์ตัวอย่าง***

แบ่งตัวอย่างดินออกเป็น 4 ส่วนๆ ละ 500 กรัม โดยส่วนแรกนำไปวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อหาลักษณะเนื้อดิน อินทรีย์วัตถุในดิน CEC ปริมาณธาตุอาหารที่สำคัญ คือ P และ K ส่วนที่เหลือนำไปวิเคราะห์หาจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนในกลุ่มแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนในกลุ่ม cyanobacteria และไรโซเบียม

*การวิเคราะห์แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ:* วิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระเฉพาะพวก aerobic โดยวิธี Most Probable Number (MPN) ใช้ nitrogenase activity เป็นตัวชี้นำตามวิธีการของ Roper and Halsall (1989) ในขณะเดียวกันทำการ isolate แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนดังกล่าวเพื่อการจำแนกหาสกุล (genus) และเก็บเชื้อที่แยกได้ส่วนหนึ่งส่งไปที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เพื่อทำการวิเคราะห์หา DNA pattern โดยวิธีการ PCR

*การวิเคราะห์ cyanobacteria ตรึงไนโตรเจน*: วิเคราะห์หาจำนวนโดยวิธี MPN nitrogenase activity index ของ Grant et al. (1985) การบ่มตัวอย่างต้องทำในที่ที่มีแสงซึ่งออกแบบมาเพื่องานนี้โดยเฉพาะ ทำการ isolate cyanobacteria เพื่อหา genus และ species และนำตัวอย่างที่แยกได้ส่งไปที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเพื่อทำการจำแนก DNA pattern

*การวิเคราะห์หาปริมาณไรโซเบียม:* วิเคราะห์หาปริมาณไรโซเบียมโดยวิธี MPN-plant infection technique ของ Somasegaran and Hoben (1994) ซึ่งใช้ถั่วเซอราโตรเป็น index เพราะเซอราโตรเป็น promiscuos plant ที่สามารถสร้างปมกับไรโซเบียมได้ทุกชนิด จากนั้นทำการ isolate ไรโซเบียมจากปมของเซอราโตรเพื่อจำแนกต่อไป และส่งตัวอย่างเชื้อส่วนหนึ่งไปที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเพื่อทำการวิเคราะห์หา DNA pattern

การวิจัยที่ใช้เทคนิค PCR ได้แก่ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกลุ่ม Aectobacter ที่อาศัยอยู่กับอ้อย โดยศึกษาขนาดและจำนวนของพลาสมิดที่พบ และ DNA hybridization pattern โดยใช้ *nif*HDK จาก *Rhizobium elti* CFN42 เป็น probe ตามวิธีการของ Mellado and Romeo (1994) หรือการศึกษาความหลากหลายของประชากร *Bradyrhizobium japonicum* ในโปแลนด์ โดยใช้เทคนิค PCR และใช้ REP เป็น primer (Madrzak et al., 1995) การศึกษาของ Rhizobia ในปมพืช *Phaseolus vulgaris* L. ในเคนยาโดยใช้เทคนิค Southern blot hybridization กับ *nif*H gene (Anyango et al., 1995) หรือการศึกษาของ actinomycete *Frankia* โดยใช้เทคนิค PCR ร่วมกับ RFLP (Jamann et al.,1993) และการวิเคราะห์ phylogenetic ของกลุ่มจุลินทรีย์ในดินในแปลงถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิค PCR โดยมี primer เป็น small subunitns ของ RNA gene (Veda et al., 1995) เป็นต้น

ข้อมูลของประชากรจุลินทรีย์ที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด นำมาหาความสัมพันธ์กับสภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่น คุณสมบัติของดิน อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณฝน ระดับความสูง พืชที่ขึ้นอยู่ และระบบการปลูกพืชโดยใช้วิธีการทางสถิติ คือ multiple regression

## ผลการวิจัย

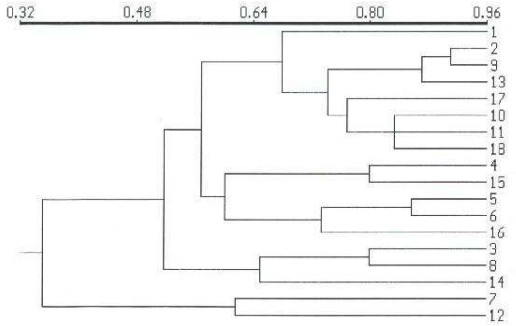
***ไรโซเบียม***

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางระบบนิเวศต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรไรโซเบียมในดินพื้นที่ต่างๆ กันของภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่าพื้นที่ที่ถูกรบกวนน้อย เช่น พื้นที่ป่าไม่ถูกรบกวน พื้นที่ยอดเขามีประชากรไรโซเบียมน้อยกว่าพื้นที่ทำการเกษตร ส่วนพื้นที่ที่ทำการเกษตรโดยปลูกพืชไร่สลับข้าวมีประชากรไรโซเบียมสูงสุด เช่นเดียวกับพื้นที่รกร้างว่างเปล่าแต่มีพืชขึ้นปกคลุมอยู่หนาแน่น สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Singleton et al. (1990) ซึ่งพบว่าปริมาณไรโซเบียมมีสูงในสภาพพื้นที่ป่าและมีพืชตระกูลถั่วอยู่หนาแน่น การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของประชากรโดยเฉลี่ยเป็นไปตามฤดูกาล คือ ในฤดูหนาวปริมาณไรโซเบียมในดินลดลงอย่างมาก เนื่องจากสภาพแห้งแล้ง ความชื้นในดินต่ำ อุณหภูมิต่ำ และไม่มีพืชปกคลุมดิน เมื่อถึงฤดูร้อนและฤดูฝน อัตราของประชากรไรโซเบียมก็เพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับการค้นพบของ Boonkerd and Weaver (1982) เช่นกัน สำหรับปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ

ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรไรโซเบียม เช่น คุณสมบัติทางเคมีบางประการของดิน เช่น pH, EC, Ca, K, P และอินทรีย์วัตถุในดิน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรบางพื้นที่ แต่บางพื้นที่ก็ไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Beck and Muns (1985) และ O' Hara et al. (1988) พบว่าไรโซเบียมต้องการฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโตค่อนข้างต่ำ (0.5-0.06 ppm) รวมถึงธาตุอื่นๆ เช่น โพแทสเซียมและแมกนีเซียม ปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญ ได้แก่ ความชื้นของดิน มีผลกระทบต่อประชากรไรโซเบียมในพื้นที่ที่ทำการเกษตร เช่น พื้นที่ปลูกพืชไร่สลับข้าว และพื้นที่รกร้างว่างเปล่าที่มีพืชขึ้นปกคลุมอยู่หนาแน่น ส่วนพื้นที่ปลูกผักมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากและประชากรมักมีน้อยเนื่องจากไม่มีการปลูกถั่ว จากการศึกษาของ Palmer และ Young (2000) พบว่าในดินที่เหมาะสมแก่การเพาะปลูกที่มีการปลูกถั่วลันเตาอย่างต่อเนื่องจะพบจำนวนประชากรของ *R. leguminosarum* และความหลากหลายของไรโซเบียมสูงกว่าบริเวณที่ทำการปลูกหญ้าแต่อย่างเดียว และยังพบว่าดินที่มีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงหรือมีปริมาณฟอสเฟตที่มากหรือดินที่มีค่า pH ต่ำจะส่งผลให้ไรโซเบียมลดความหลากหลายลงด้วย

จากการสำรวจทั้งหมดพบว่าประชากรส่วนใหญ่ของกลุ่มไรโซเบียมถึง 99% จัดเป็นกลุ่มที่เจริญช้า (slow grower) หรืออาจจัดอยู่ในจีนัส *Bradyrhizobium* ส่วนอีก 1% อยู่ในกลุ่ม fast grower ซึ่งอาจอยู่ในกลุ่มจีนัส *Rhizobium* ในกลุ่ม slow grower พบว่า 36% ของจำนวนไอโซเลตทั้งหมดสามารถสร้าง IAA ได้ ในขณะที่มีเพียง 1% ในกลุ่ม fast grower สามารถสร้าง IAA ได้ ลักษณะนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Fuhrmann (1993) ที่ว่าในส่วนจีนัส *Bradyrhizobium* ไม่สามารถสร้าง IAA ซึ่งคาดว่าเป็นประชากรส่วนใหญ่ในการศึกษาครั้งนี้น่าจะมีความสัมพันธ์กับ *B. japonocum* ที่สามารถตรึงไนโตรเจนให้กับถั่วเหลืองซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจ (Nuntagij et al., 1997)

จากการศึกษารูปแบบการต้านสารปฏิชีวนะทั้ง 8 ชนิด พบว่าสามารถจำแนกรูปแบบของความแตกต่างได้ 123 กลุ่ม โดยประชากรส่วนใหญ่มีความสามารถในการต้านสารปฏิชีวนะ trimetroprim และ sensitive ต่อ kanamycin ยิ่งไปกว่านั้นเป็นที่น่าสังเกตว่าไอโซเลตที่แยกได้จากระบบนิเวศที่มาจากภูเขาที่ อำเภอภูเรือ จ.เลย จำนวน 7 ไอโซเลต มีรูปแบบการต้านทานสารปฏิชีวนะรูปแบบเดียวกัน วิธีการศึกษานี้ได้มีการใช้บ้างพอสมควรในการจัดจำแนก (Beynon and Josey, 1980; Eaglesham, 1987 และ Mueller et al., 1988) ซึ่งพบว่าผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Elkan (1992) ที่ว่ากลุ่มที่เป็น slow grower ส่วนใหญ่ไม่ค่อย sensitive ต่อสารปฏิชีวนะ และจากการศึกษาแบคทีเรียในกลุ่มจีนัส Bradyrhizobium sp. และ B. japonicum จำนวน 38 สายพันธุ์ ที่สร้างปมได้ในถั่วเขียว ถั่วลิสง และถั่วเหลืองก็ให้ผลทำนองเดียวกันด้วย (Teaumroong et al., 1998) การใช้ PCR-RAPD (random amplified polymorphic DNA) ในการจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ในจุลินทรีย์ในปัจจุบันเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์ genetic polymorphism ในแต่ละกลุ่มของจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี (Fani et al., 1993) นอกจากนี้การใช้ RAPD ในการศึกษาความหลากหลายของไรโซเบียมโดย De Bruijn (1992) ก็ยังพบว่าให้ผลการทดลองที่น่าเชื่อถือได้อีกด้วย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้นำเทคนิคมาใช้เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ในระดับชีววิทยาของสายพันธุ์ไรโซเบียมว่ามีปรากฏในฤดูกาลใดบ้างในระบบนิเวศแต่ละแบบ




ภาพที่ 1. แสดง dendrogram ของไรโซเบียมกลุ่มเจริญช้าที่สร้างจาก PCR-RAPD หมายเลข 1 = *B. Japonicum* หมายเลข 2-18 = เป็นสายพันธุ์ของไรโซเบียมที่แยกจากทุกภาคของประเทศ

จากภาพแสดง Dendrogram (ภาพที่ 1) จะเห็นว่าไรโซเบียมกลุ่มเจริญช้าที่แยกได้จากดินในประเทศทั้งหมดไม่ได้

เป็น *B. japonicum* (หมายเลข 1 ในภาพ) นอกจากนี้เมื่อนำ RAPD pattern ทั้งหมดมาสรุปวิเคราะห์เทียบกับแหล่งดินต่างๆ ในฤดูฝนและฤดูแล้ง พบว่ากลุ่มไรโซเบียมที่ให้ RAPD pattern แบบที่ 2 พบได้ทั่วไปในทุกภาคและทุกฤดูกาล ในขณะที่ส่วนระบบนิเวศที่เป็นภูเขา ซึ่งมิได้ถูกรบกวนจากการกระทำของมนุษย์พบว่า มีความหลากหลายของไรโซเบียมสูงที่สุด รองลงมา คือ บริเวณป่า ในขณะที่ระบบนิเวศที่มีการทำลายป่าเพื่อการเพาะปลูกรวมไปถึงแปลงปลูกผักพบว่ามีความหลากหลายน้อยที่สุด

ผลของการศึกษาพบว่าไรโซเบียมในประเทศไทยน่าจะเป็น *Bradyrhizobium* sp. ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการสร้างปมกับ cowpea (*Vigna*) เป็นส่วนใหญ่ แต่ไม่สามารถสร้างปมได้กับถั่วเหลือง สอดคล้องกับงานวิจัยที่ว่าถั่วเหลืองเป็นพืชดั้งเดิมในบริเวณตะวันออกเฉียงเหนือของจีนและแพร่กระจายตัวไปยังญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน และรัสเซีย ในขณะที่พืชตระกูลถั่วกลุ่ม *Vigna*, *Desmodium* และ *Sesbania* มีการแพร่กระจายตัวอยู่มากในประเทศไทย (Duke, 1981) ประกอบกับมีการพบว่าไรโซเบียมในกลุ่ม *Bradyrhizobium* มีความหลากหลายในกลุ่มสูงมาก (Heterogenous group) (Jordan, 1984) ดังเช่น ในการศึกษากลุ่ม *Bradyrhizobium* ที่ได้แยกจากถั่วเหลืองในประเทศไทยกับญี่ปุ่นโดย Yokoyama et al. (2000) ซึ่งใช้เทคนิค RELP และการอ่านลำดับเบส ในการตรวจสอบกลุ่ม nod gene และ 16S rRNA พบว่ากลุ่ม *Bradyrhizobium* ที่พบในประเทศไทยมีลักษณะทางพันธุกรรมต่างไปจากกลุ่มที่พบในญี่ปุ่นอย่างเห็นได้ชัด หรือแม้แต่ *Bradyrhizobium* ที่สร้างปมได้ในพืชกลุ่ม *Vigna* ในประเทศไทยเองก็พบว่ามีสายวิวัฒนาการแยกออกมาจาก *B. japonicum* และ *B. elkanii* ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้

อย่างไรก็ตาม เมื่อไม่นานมานี้พบว่ามี *Bradyrhizobium* sp. อีกสปีชีส์หนึ่งที่มีความสามารถในการสร้างปมได้ในถั่วเหลือง ได้แก่ *B. liaoningense* (Xu et al., 1995) โดยพบว่ามีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับ *B. japanicum* มากกว่า *B. elkanii* เมื่อมีการพิจารณาจากลำดับเบสบนยีน 16S rRNA แต่ปัจจุบันมีการพบชุดของยีนที่มีความ conserve น้อยกว่าส่วน 16S rRNA ซึ่งได้แก่ บริเวณที่เรียกว่า Internally Transcribed Spacer (ITS) ซึ่งอยู่ในระหว่างชุดยีน 16S และ 23S rRNA (Young et al., 1996) จึงทำให้มีการค้นพบใหม่ว่าที่แท้ *B. Liaoningense* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดต่างไปจากเดิมเมื่อเทียบกับ *B. japonicum* (Van Berkum et al., 2000) ดังนั้น จะเห็นว่าเทคนิคทางชีววิทยาอณูในการศึกษาความหลากหลายของไรโซเบียมได้มีการพัฒนาวิธีการใหม่ๆ ขึ้นมาตลอดเวลา ประกอบกับมีการทดลองหลายอย่างแสดงให้เห็นว่า ความหลากหลายในกลุ่ม *Bradyrhizobium* sp. มีมากกว่าที่เคยคาดกันไว้ เฉพาะในกลุ่ม fast grower คณะผู้วิจัยมีแนวคิดว่าการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์กลุ่ม *Bradyrhizobium* sp. ในประเทศไทย มีโอกาสพบสายพันธุ์ใหม่ๆ อีกมาก จึงควรมีการศึกษาต่อด้วยเทคนิค เช่น การจำแนกตามลักษณะลำดับชุดยีนที่ควบคุมการสร้างปม ถ้าจำแนกโครงสร้างของ nod factor ที่เป็น Polysaccharide ชนิดต่างๆ หรือการอ่านลำดับเบสบริเวณ ITS รวมไปถึงยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ gyrase ที่พบว่ามีความแปรปรวนน้อยมาก เหมาะที่จะใช้ศึกษากับแบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถเกิด Horizotal gene transfer ได้ง่ายอย่างไรโซเบียม

***ไซยาโนแบคทีเรีย***

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรไซยาโนแบคทีเรีย ในระบบนิเวศที่แตกต่างกันพบว่า พื้นที่ที่ถูกรบกวนจากมนุษย์น้อยหรือไม่มีการรบกวน ได้แก่ บริเวณภูเขามีประชากรไซยาโนแบคทีเรียน้อยกว่าบริเวณพื้นที่ทำการเกษตรอย่างชัดเจน และการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของประชากรโดยเฉลี่ยเป็นไปตามฤดูกาล กล่าวคือ ในช่วงฤดูฝนปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่าในหน้าแล้ง สำหรับปัจจัยแวดล้อมที่เข้ามาเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรไซยาโนแบคทีเรีย คุณสมบัติทางเคมีของดินบางประการ เช่น Ca, K, P, Organic matter และ pH มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรในบางพื้นที่แต่ในบางพื้นที่ปัจจัยเหล่านี้ไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังเช่น การศึกษาผลของปริมาณ P ต่ออัตราการเจริญของ *A. oryzae* พบว่าในปริมาณของ P ที่ปรากฏเพียง 20 ppm ก็เพียงพอต่อการเจริญแล้ว (สมพร และคณะ, 2523) เป็นต้น ส่วนปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ ความชื้นของดิน ก็มีผลเป็นบางพื้นที่เช่นเดียวกัน นอกจากนี้พบว่า ในบริเวณที่ปลูกพืชไร่ในทุกภาค ในภาคอีสานจะมีประชากรโดยเฉลี่ยต่ำที่สุด ซึ่งอาจเป็นเพราะเป็นบริเวณที่มีลักษณะเป็นดินทรายมากกว่าภาคอื่นๆ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu et al. (1998) ที่ศึกษาการแพร่กระจายของไซยาโนแบคทีเรียในดินบริเวณตอนกลางของแม่น้ำเหลือง ประเทศจีน ซึ่งพบว่าในดินร่วนและดินเหนียว มักพบการแพร่กระจายตัวของไซยาโนแบคทีเรียมากในขณะที่ดินทรายพบว่ามีน้อยที่สุด

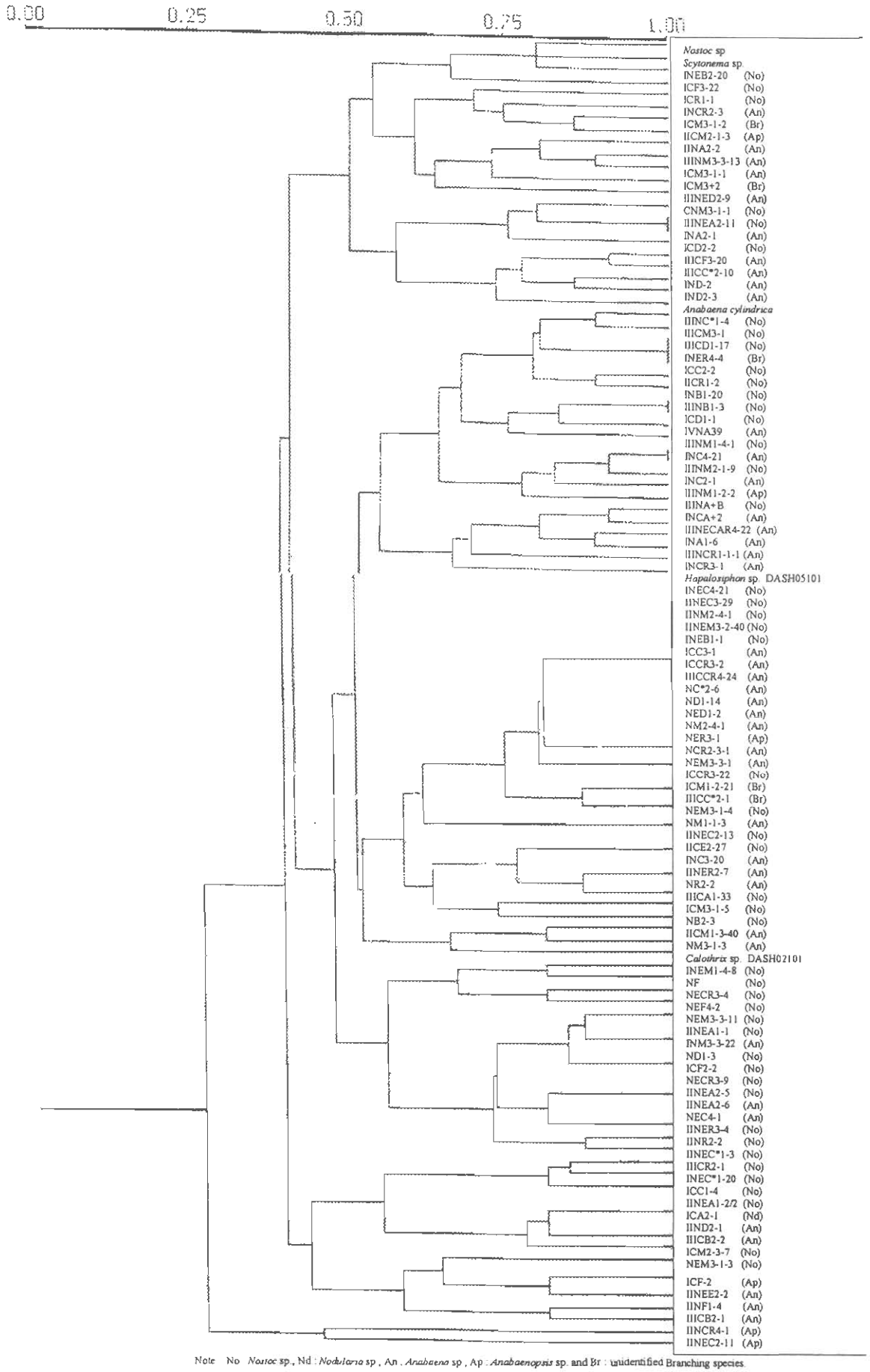
จากการสุ่มแยกเชื้อ cyanobacteria จากดินในระบบนิเวศต่างๆ กันของภาคเหนือ, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลางของประเทศไทยได้ทั้งสิ้น 102 ตัวอย่าง (จากทั้งหมด 853 ตัวอย่าง) แล้วทำการศึกษาความหลากหลายในลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น การจัดเรียงตัวของเซลล์, ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็งและการเจริญของ cyanobacteria บนอาหารเหลว ได้ทั้งสิ้น 102 ตัวอย่าง ที่เป็น heterocystous cyanobacteria โดยพื้นที่ยอดเขาจะมีความหลากหลายของ cyanobacteria สูงเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ที่ทำการเพาะปลูก จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจะเห็นได้ว่ากลุ่มของ *Nostoc* sp. และ *Anabaena* sp. เป็น genus ที่พบในดินของประเทศไทยเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเมื่อใช้วิธี Acetylene reduction assay (ARA) ศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน พบว่า cyanobacteria สามารถตรึงไนโตรเจนได้ทั้งในสภาวะมืดและสว่าง โดยจะตรึงในสภาวะที่สว่างได้สูงกว่าที่มืด ยกเว้นบางสายพันธุ์ เช่น INM3-1-3 ที่สามารถตรึงไนโตรเจนในสภาวะที่มืดได้สูงกว่าที่สว่าง

การศึกษาความหลากหลายของ cyanobacteria ในระดับ DNA โดยเทคนิค PCR มี DNA fingerprint ที่ได้จาก primer ดังนี้ เริ่มจาก *nif*H-PCR product จะแบ่ง cyanobacteria ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ โดยที่ cyanobacteria บางชนิดยังไม่สามารถจำแนกความแตกต่างได้ อย่างไรก็ตามจากความสัมพันธ์ในลักษณะ dendrogram (ภาพที่ 2) ด้วย primer ชุดนี้สามารถแบ่งกลุ่มของ cyanobacteria ที่ตรึงไนโตรเจนในระดับสูงได้ จากนั้นใช้ random primers เพื่อจำแนกความหลากหลายได้มากขึ้น ได้แก่ STRR, DAF8.7b และ DAF10.6 ซึ่งแต่ละ primer ยังคงไม่สามารถจำแนก cyanobacteria แต่ละตัวได้อย่างชัดเจน โดยแบ่งได้เป็น 2, 6 และ 7 กลุ่มใหญ่ๆ ที่แตกต่างกันตามลำดับ แต่เมื่อนำ PCR product ของแต่ละ primer มารวมกันสามารถแบ่ง cyanobacteria ได้เป็น 5 กลุ่ม และแต่ละสายพันธุ์สามารถจำแนกความแตกต่างได้อย่างชัดเจน นั่นคือ วิธีนี้สามารถจำแนก cyanobacteria ทั้งหมดได้ในระดับ intraspecies

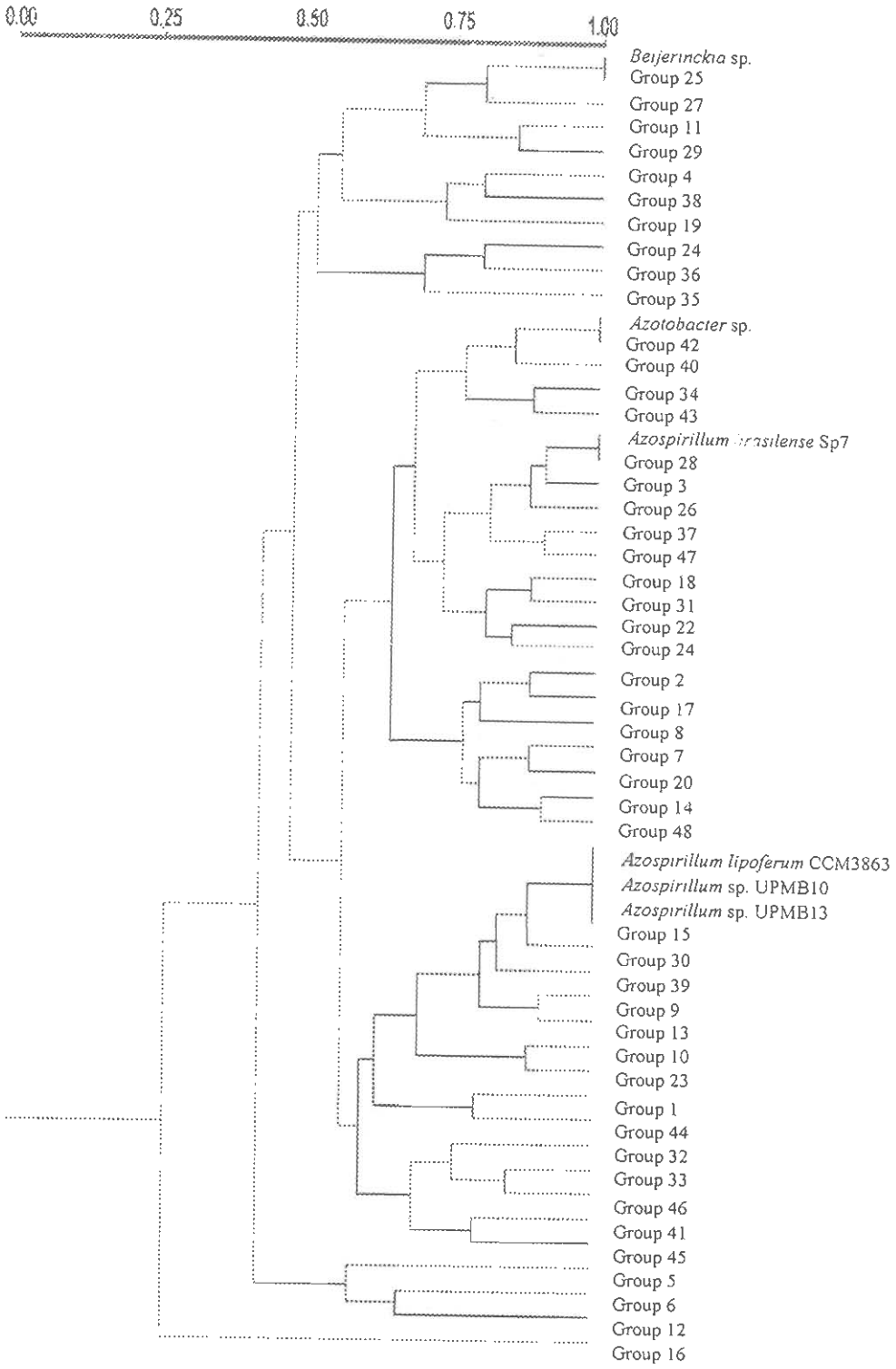
เมื่อพิจารณาการใช้ *nif*H เป็น primer ในการสำรวจดูความหลากหลายพบว่าจะมีกลุ่มหนึ่งปรากฏใน dendogram ใน cluster ที่ 2 พบว่ากลุ่มเชื้อใน cluster นี้มีไซยาโนแบคทีเรียที่มีความสามารถตรึงไนโตรเจนได้สูงกว่าไซยาโนแบคทีเรียใน cluster อื่นๆ และเมื่อพิจารณาดูความสัมพันธ์ระหว่างชนิดจีนัสกับแหล่งที่แยกเชื้อได้พบว่า การกระจายตัวของกลุ่มที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้สูงพบได้เกือบทุกภาคและทุกฤดูกาล เช่น มีกลุ่ม *Nostoc* ที่มีลักษณะ *nif*H product เหมือนกัน ในบริเวณปลูกผัก ทำนา และเชิงเขาในภาคกลางจะเหมือนกับที่พบในที่นาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือในกรณีที่ใช้ STRR เป็น primer ในการตรวจสอบก็พบ *Nostoc* สายพันธุ์เดียวกันในพื้นที่ปลูกพืชไร่ และที่มีการทำลายป่าเพื่อการเกษตร 1-2 ปี ในภาคกลางและพื้นที่ปลูกพืชไร่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือ *Anabaena* สายพันธุ์เดียวกันในบริเวณเชิงดอยอินทนนท์กับพื้นที่ปลูกพืชไร่ภาคเหนือ และยิ่งไปกว่านั้นการใช้ STRR บางครั้ง พบว่าลักษณะของ DNA ที่ได้ระหว่าง 2 สายพันธุ์ แม้จะเหมือนกันแต่เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยาพบว่าไม่ใช่ตัวเดียวกัน เช่น *Anabaena* และ *Nostoc* เหตุการณ์นี้ทำให้ตั้งสมมติฐานได้ถึงการมีสายวิวัฒนาการของทั้ง 2 สกุลที่ใกล้เคียงกันมาก ในส่วนกรณีของการใช้ชุด DAF เป็น primer ก็ให้ผลไปในทำนองนองเดียวกับการใช้ STRR

ดังนั้นเมื่อทำการรวบรวมลักษณะ DNA ที่ได้จาก primer ทั้งสามเข้าด้วยกัน สามารถบอกได้ว่าเชื้อทั้งหมดที่ทำการสุ่มมาศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมระดับ DNA สูง คือ ไม่มีตัวใดซ้ำกันเลย จึงอาจกล่าวได้ว่าดินในประเทศไทยมีความหลากหลายของไซยาโนแบคทีเรียสูงมาก และการแพร่กระจายตัวเป็นไปอย่างกว้างขวางไม่จำเพาะเจาะจงต่อระบบนิเวศ เช่น ในกลุ่ม *Anabaena* และ *Nastoc* ที่พบว่าเป็น dominant genera ของดินในประเทศไทยสามารถพบได้ในทุกภาคและทุกฤดูกาลด้วยความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมาก

เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์ขั้นต่อไปน่าจะมีการศึกษาในเชิงลึก ซึ่งอาจพิจารณาเฉพาะกลุ่มของไซยาโนแบคทีเรีย หรือวิเคราะห์ในระบบนิเวศใดระบบหนึ่ง เช่น การนำมาใช้เพื่อเป็นปุ๋ยชีวภาพมีโอกาสที่จะได้สายพันธุ์ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่กดดัน และมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูง แต่ควรมีการคำนึงถึงปัจจัยการแก่งแย่ง (จะเห็นได้จากดินในประเทศมีความหลากหลายสูงจึงมีความเป็นไปได้ที่จะเกิดโอกาสการแก่งแย่งสูง) เช่น มีการพบว่าไซยาโนแบคทีเรีย *Fischerella* สามารถสร้างสารพิษที่ชื่อ Fischerellin ไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรียตัวอื่นได้ เป็นต้น หรืออาจมีการคัดเลือกสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน ที่มีบทบาทในการลดโลหะหนักในบ่อบำบัดน้ำเสียก็เป็นอีกแนวทางหนึ่ง หรือการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่มักเกิดควบคู่กับขบวนการตรึงไนโตรเจน เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานสำรองต่อไป




ภาพที่ 2. Dendrogram ของไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน วิเคราะห์โดยใช้ *nif*H-PCR




ภาพที่ 3. Dendrogram แสดงการจำแนกกลุ่มของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ วิเคราะห์โดยใช้ *nif*H-PCR

***แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ***

ผลการวิจัยพบว่า พื้นที่เก็บตัวอย่างดินที่แตกต่างกันของแต่ละภูมิภาคมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระที่แตกต่างกัน พื้นที่เกษตรกรรมจะมีจำนวนแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระต่อกรัมดินแห้ง มากกว่าพื้นที่รกร้างว่างเปล่าและพื้นที่บริเวณภูเขาซึ่งเป็นพื้นที่ป่า Boonkerd and Weaver (1982) แสดงให้เห็นว่าความชื้นมีผลในทางบวกต่อประชากรของกลุ่มแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระ ในขณะที่ผลการทดลองของ Watanabe (1981) ก็ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งมักพบจำนวนประชากรในพื้นที่เกษตรกรรมที่ค่อนข้างสูง กล่าวคือ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระเช่น *Azospirillum* sp. และกลุ่ม *Enterobacteriaceae* จำนวนมากมักอาศัยอยู่บริเวณรอบรากของต้นข้าว เป็นต้น พื้นที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางนิเวศที่แตกต่างกัน จะมีปริมาณแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระต่อกรัมดินแห้งแตกต่างกัน ซึ่งภูมิภาคต่างกันก็มีจำนวนแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระแตกต่างกันด้วย โดยจำนวนแบคทีเรียอยู่ในช่วง 2.75 ถึง 3.71 log number ของเซลล์ต่อกรัมดินแห้ง โดยเฉลี่ยแล้วพื้นที่ที่มีการเพาะปลูกหรือมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางนิเวศของภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีจำนวนแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระมากกว่าพื้นที่ป่าซึ่งไม่ถูกรบกวนไม่ทำให้นิเวศวิทยาสูญเสียไป สามารถกล่าวได้ว่าการไถพรวนเปลี่ยนแปลงโครงสร้างดินมีการเปลี่ยนแปลงไป การใส่ปุ๋ยเคมีหรือสารเคมีกำจัดวัชพืชและศัตรูพืช ตลอดจนชนิดของพืชที่ปลูกในพื้นที่นั้นๆ มีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระต่อกรัมดินแห้งเพิ่มปริมาณมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ป่าดั้งเดิมซึ่งสอดคล้องและเป็นไปตามการศึกษาของ Borneman et al. (1996) ที่แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่รอดและปรับตัวได้ดี แม้ว่าบางครั้งยาฆ่าวัชพืชและยากำจัดศัตรูพืชจะทำให้การหายใจของแบคทีเรียลดลง แต่แบคทีเรียมีการปรับตัวในระดับยีนเกิดขึ้น นอกจากนี้พบว่าพืชยังมีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียกลุ่มนี้มาก เพราะแบคทีเรียสามารถได้รับประโยชน์จากสารอินทรีย์ที่พืชปลดปล่อยออกมาทางราก (Okon and Kapulnik, 1986; Ishac et al., 1986)

จากการศึกษาขนาดและรูปร่างของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระที่แยกได้จากตัวอย่างดินทั้งหมด 222 ไอโซเลต พบว่าทุกไอโซเลตเป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างเป็น rod shape ถึง 63.51% ของประชากรทั้งหมด และมีลักษณะเป็น short-rod 31.98% นอกจากนี้ผลการทดลองครั้งนี้ยังคล้ายคลึงกับการค้นพบของ Archan (1986) ที่ศึกษาแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระในบริเวณดินที่เป็นกรดในประเทศไทยจำนวน 259 ไอโซเลต ซึ่งเป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่พบบริเวณดินเค็มตอนเหนือของอเมริกาจำนวน 339 สายพันธุ์ ซึ่งอาศัยอยู่บริเวณรากของ *Spartina alternitlona* (smooth cord grass) เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบทั้งหมดเช่นเดียวกัน

เมื่อทำการตรวจสอบความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียทุกไอโซเลตพบว่า ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสอยู่ในช่วงที่กว้างตั้งแต่ 1-9,500 นาโนโมล $C_2H_4$/มก. โปรตีน/วัน โดยพบว่ามีเพียง 1 ไอโซเลตที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้สูงสุดคือ มีค่า ARA ในช่วง 9,001-9,500 นาโนโมล $C_2H_4$/มก. โปรตีน/วัน รองลงมามี 2 ไอโซเลต ซึ่งมีค่า ARA ในช่วง 4,001-4,500 นาโนโมล $C_2H_4$/มก. โปรตีน/วัน ในขณะที่ส่วนใหญ่อีก 194 ไอโซเลต พบว่ามีความสามารถตรึงไนโตรเจนได้ต่ำ คือ อยู่ในช่วงค่า ARA 1-500 นาโนโมล $C_2H_4$/มก. โปรตีน/วัน ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายที่มีมากในแบคทีเรียกลุ่มนี้ นอกจากนี้ผลการศึกษายังคล้ายคลึงกับการศึกษาแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนบริเวณรากต้นอ้อยที่พบว่ามีหลายจีนัสที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนต่างกันไป (Siripin, 1986) รวมไปถึงลักษณะคล้ายคลึงกับที่พบบริเวณรากของต้นข้าวด้วย (Archan, 1986)

ในการจำแนกกลุ่มแบคทีเรียโดยใช้หลักการทางชีวเคมี เช่น Voges-Poskraver reaction การใช้อาหารแหล่งคาร์บอนแบบต่างๆ เช่น กลูโคส แมนิทอล แรมโนส เบนโซเอท อราซิโนส และ PDA ผลการทดสอบสามารถจำแนกแบคทีเรียได้ดังนี้ *Beijerinkia* 16 สายพันธุ์, *Klebsiella* sp. 4 สายพันธุ์, *Azotobacter* sp. 1 สายพันธุ์, *Azomonas* sp. 18 สายพันธุ์, Azospirillum sp. 17 สายพันธุ์ และไม่สามารถจำแนกได้ด้วยวิธีนี้ 166 สายพันธุ์ จากการทดลองของ Archan (1986) ที่ศึกษา Chemotaxanomy ของแบคทีเรียกลุ่มตรึงไนโตรเจนบริเวณรากข้าว พบว่ามีกลุ่มจีนัส ได้แก่ *Klebsiella oxytoca* และ *Azospirillum* sp.

เมื่อนำ *nif*D primer มาทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR กับแบคทีเรียทุกไอโซเลต พบว่าสามารถจำแนกได้ออกเป็น 48 กลุ่ม (ภาพที่ 3) แต่ละกลุ่มเมื่อจำแนกตามภาคพบแบคทีเรียสายพันธุ์อ้างอิง *Azospirillum lipoferum* CCM 3863, *Azospirillum* sp. UPMB 10 และ UPMB 13 จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (กลุ่มที่ 15) ในขณะที่ *Azospirillum* sp. 7 จะต่างจากพวก (อยู่ในกลุ่ม 28) ส่วน *Beijerinkia* sp. และ *Azotobacter* sp. จะแตกต่างกันด้วย (อยู่ในกลุ่ม 25 และ 42 ตามลำดับ) ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 6 ซึ่งไม่ใกล้เคียงกับสายพันธุ์อ้างอิงที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เลย เนื่องจาก *nif*D gene ทำหน้าที่ควบคุมการสร้าง $\alpha$-subunit ของ nitrogenase ในกลุ่มแบคทีเรียกลุ่มนี้ (Young, 1993) ดังนั้นจึงได้นำมาใช้ในการจำแนก (เช่นเดียวกับการวิจัยของ Ueda et al., 1995) อย่างไรก็ตาม ผลที่ได้จากการจำแนกโดยใช้วิธีนี้กับวิธีทางชีวเคมีมิได้ให้ผลสอดคล้องกัน เมื่อพิจารณาถึง *nifD* pattern กับลักษณะการปรากฏของแบคทีเรียในแต่ละระบบนิเวศในช่วงฤดูฝนและฤดูแล้ง พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่คาดว่าเป็น dominant native strain ในทั้ง 2 ฤดู สามารถพบบนยอดและกลางดอยอินทนนท์ พื้นที่ปลูกพืชไร่สลับข้าวในภาคกลาง พื้นที่รกร้างในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ป่าในภาคเหนือและพื้นที่ที่ผ่านการบุกรุกทำลายป่าและทำการเกษตรมากกว่า 3 ปี ในภาคเหนือ

เมื่อนำแบคทีเรียในแต่ละกลุ่มที่จำแนกตาม *nifD* pattern ทั้ง 48 กลุ่ม มาทำการศึกษาความหลากหลายในแต่ละกลุ่มโดยใช้ EPIC primer ซึ่งเป็น primer ที่ถูกออกแบบมาจากแบคทีเรียแกรมลบ และได้มีการทดสอบแล้วว่าเหมาะสมที่จะใช้ศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มนี้ (Frans, 1992) และจากการทดลองนี้พบว่าเมื่อทำการจำแนกดูความหลากหลายภายในแต่ละกลุ่มของ *nif*D พบว่า *nif*D กลุ่มที่ 1 มีเพียง 2 คู่สายพันธุ์ที่มีโอกาสเป็นสายพันธุ์เดียวกัน คือ ICA16 และ IVCR 21 กับ INECR 44 และ INEB 11 ซึ่ง ICA 16 เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากภาคกลางในพื้นที่ป่าในฤดูฝน ส่วน IVCR 21 เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากภาคเดียวกันในบริเวณที่ทำการปลูกข้าวสลับพืชไร่ในฤดูแล้ง ในขณะที่ INECR 44 เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือบริเวณที่ปลูกข้าวสลับกับพืชไร่ในฤดูฝน และ INEB 11 เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากภาคเดียวกันในพื้นที่บริเวณที่ผ่านการทำลายป่าและทำการเกษตรมาแล้ว 1-2 ปี ซึ่งจากผลการทดลองนี้เองทำให้เห็นถึงการกระจายตัวของแบคทีเรียว่าในสายพันธุ์เดียวกันอาจแพร่กระจายและดำรงชีวิตอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมต่างๆ กันในแต่ละภูมิภาคได้ ส่วน *nif*D กลุ่มอื่นที่เหลือพบว่าในแต่ละกลุ่มมีความหลากหลายสูง ไม่มีสายพันธุ์ใดที่มีแนวโน้มจะเป็นสายพันธุ์เดียวกันเลย ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้แยกได้จากดินในประเทศที่มีความหลากหลายสูงกว่ากลุ่มอื่นที่ได้ทำการศึกษามา

การทดสอบความเกี่ยวเนื่องทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ เมื่อใช้วิธีการตรวจสอบทางชีวเคมีพบว่ากลุ่มที่คาดว่าจะอยู่ในจีนัส *Beijerinkia* มีการกระจายตัวในเกือบทุกภาคและระบบนิเวศเกือบทุกประเภท ยกเว้นภาคกลางซึ่งพบน้อยและพบเพียงในระบบนิเวศที่มีการปลูกแต่พืชไร่ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการวิเคราะห์โดยใช้ *nif*D primer ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Klebsiella* ไม่พบในภาคเหนือเลย แต่กลับพบในพื้นที่ทำการเกษตรแบบทำไร่หรือทำไร่สลับกับการทำนาในภาคกลาง ในภาคอีสานพบเพียงบริเวณเชิงเขา แบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Azotobacter* พบว่ามีความหลากหลายน้อยมากพบเป็นเพียงบางบริเวณ เช่น บริเวณที่ทำการปลูกผักในภาคอีสานเท่านั้น ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของ *nif*D gene กับแบคทีเรียกลุ่มนี้พบว่ากลุ่มที่มี *nif*D gene ที่สัมพันธ์กับ *Azotobacter* พบเป็นส่วนใหญ่ในภาคอีสาน ในภาคเหนือพบบริเวณพื้นที่เขา พื้นที่ป่า และที่มีการปลูกผัก แต่ไม่พบในพื้นที่ภาคกลางเลย ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มจีนัส *Azomonas* พบว่ามีความหลากหลายน้อยมากในภาคอีสานเมื่อเปรียบเทียบกับ *Beijerinkia* แต่พบในระบบนิเวศเกือบทุกประเภทในภาคเหนือและภาคกลาง ส่วนอีกกลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* พบว่ามีความหลากหลายน้อยมากในภาคอีสาน แต่พบมากในภาคเหนือและภาคกลาง เมื่อพิจารณาจากกลุ่มที่มี *nif*D gene สัมพันธ์กับ *A. brasillense* sp. 7 พบว่าในภาคอีสานกลับมีความหลากหลายค่อนข้างสูงโดยเฉพาะพื้นที่ที่มีการทำการเกษตร และพบว่ามี 1 สายพันธุ์ จากบริเวณภูเรือที่มี *nif*D สัมพันธ์กับ *A. lipoferum*

เมื่อพิจารณาจากกลุ่มแบคทีเรียที่มีลักษณะของ *nif*D ที่มีความใกล้เคียงกันกับลักษณะของระบบนิเวศเพื่อที่จะดูว่าระบบนิเวศใดสามารถพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่สามารถดำรงชีวิตข้ามฤดูได้ ระบบนิเวศต่างๆ นี้ได้แก่ บริเวณดอยอินทนนท์ บริเวณภูเรือ พื้นที่ทำการเกษตรภาคกลาง, ภาคอีสาน และภาคเหนือ แต่เมื่อใช้ ERIC เป็น primer จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้ในประเทศไทยมีความหลากหลายอยู่สูงมาก และไม่พบว่ามีความสัมพันธ์แบบจำเพาะเจาะจงกับระบบนิเวศแต่ละระบบโดยตรงเมื่อพิจารณาจาก ERIC-PCR products

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าถ้าอาศัยเกณฑ์การศึกษาสรีรวิทยาของเชื้อ ระบบนิเวศจะเป็นตัวกำหนดการปรากฏของกลุ่มจีนัสของแบคทีเรียได้ระดับหนึ่ง และบางครั้งการใช้ลักษณะของ *nif*D gene ในการร่วมพิจารณาก็ให้ผลสอดคล้องกันในบางประการ อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีความหลากหลายสูง เช่น มีมากกว่า 37 genera และมีความหลากหลายในระดับสปีชีส์สูงมาก ดังนั้นถ้าต้องการจะทราบความหลากหลายในระดับจีนัสและสปีชีส์ จำเป็นต้องมีการใช้เทคนิคการอ่านลำดับเบสของยีนกลุ่ม 16S rRNA ซึ่งเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายสูง ข้อเสนอแนะในการศึกษาขั้นต่อไปควรทำในเชิงลึกเช่นเดียวกับการศึกษาในไซยาโนแบคทีเรีย

## บทสรุป

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสิ่งที่มีชีวิตทุกชนิด และแหล่งของธาตุไนโตรเจนที่สามารถนำมาใช้ได้ 99.96% อยู่ในรูปของแก๊สไนโตรเจน ดังนั้นส่วนประกอบของอากาศจึงมีไนโตรเจนถึง 76% จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนสามารถเปลี่ยนไนโตรเจนในอากาศให้อยู่ในรูปสารประกอบที่สิ่งที่มีชีวิตอื่นๆ สามารถใช้ได้ถึงประมาณ 170 ล้านตันต่อปี ในขณะที่การผลิตโดยมนุษย์ได้เพียงประมาณ 60 ล้านตันต่อปี การวิจัยครั้งนี้จึงต้องการทราบว่าสภาพแวดล้อมหรือ ecosystem ใดที่เอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในกลุ่มนี้ดำรงชีวิตอยู่ได้ดี และเมื่อสภาพแวดล้อมนั้นๆ เปลี่ยนไปจะมีผลกระทบต่อประชากรของจุลินทรีย์เหล่านั้นมากน้อยเพียงใด จากการวิจัยพบว่าประชากรของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อสภาพแวดล้อมไม่เปลี่ยนแปลง แต่เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยน เช่น พื้นที่ป่าถูกนำมาใช้ทำการเกษตร จะมีผลต่อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนในแต่ละกลุ่มต่างกัน ขึ้นอยู่กับระบบการทำการเกษตรนั้นๆ กล่าวคือ ในระบบที่มีการปลูกพืชไร่ตระกูลถั่วอย่างต่อเนื่อง หรือสลับข้าวจะทำให้ประชากรจุลินทรีย์ในกลุ่มไรโซเบียมสูงสุด และต่ำสุดเมื่ออยู่ในระบบการปลูกข้าวหรือพืชไร่อื่นๆ ที่ไม่ใช่ถั่วอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่จุลินทรีย์ในกลุ่ม cyanobacteria มีการเจริญเติบโตได้ดีมากในระบบนาข้าว และการปลูกผักที่มีความชื้นสูง สำหรับจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนอิสระจะไม่มีความสัมพันธ์กับพืชที่ปลูกโดยตรง แต่จะขึ้นอยู่กับการทำการเกษตรและสิ่งแวดล้อมทั่วๆ ไป เช่น ความชื้นในดินและอุณหภูมิในดิน กล่าวคือ ในพื้นที่ทำการเกษตรที่มีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะชอบมาก แต่เมื่ออุณหภูมิดินสูงขึ้น มีความแห้งแล้ง ประชากรจะลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อนำจุลินทรีย์ในกลุ่มดังกล่าวมาทำการศึกษาทางพันธุกรรม พบว่า มีความหลากหลายสูงแม้อยู่ในภาคหรือสิ่งแวดล้อมเดียวกัน ดังนั้นโอกาสที่จะทำการคัดเลือกของจุลินทรีย์ในกลุ่มดังกล่าวเพื่อพัฒนาไปใช้ประโยชน์จึงมีความสูงมาก

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 240001 และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และกรมวิชาการเกษตรที่ได้อนุญาตให้อาจารย์และนักวิจัยในหน่วยงานเข้าร่วมวิจัยในโครงการนี้ และขอบคุณ คุณกุลฒี สูบโคกสูง และคุณอภิญญา รัตนะจิตร ที่ได้จัดการด้านธุรการ จัดพิมพ์รายงานและประสานงานของโครงการนี้

## เอกสารอ้างอิง

เศรษฐา ศิริพินทุ์, อภิชัย ธีรธร, อนันต์ มินตารักษ์ และอภิชาติ สวนคำกอง. 2539. อิทธิพลของการใส่เชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของหญ้าแฝกบางพันธุ์. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 2. สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. เชียงใหม่

สมพร ชุณห์ลือชานนท์, บรรหาร แตงฉ่ำ, ลัดดาวัลย์ เลาหประสิทธิพร, นันทรัตน์ ศุภกำเนิด และเย็นใจ วสุวัติ. 2523. อิทธิพลของปุ๋ยฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Anabena eryzae* รายงานผลการวิจัยประจำปี สาขาจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Archan Chocnhahirum. 1986. Chenetaxonomy of some nitrogen-fixing bacteria isolated from the rhizosphere of rice (*Oryza satira* L.) grow in Thailand. Master Thesis. Chulalongkorn University, Bangkok.

Anyango, B., K.J. Wilson, J.L. Beynon and K.E. Giller. 1995. Diversity of Rhizobia nodulating *Phaseolus vulgaris* L. in two Kenyan soil mith contrrasting pHs. *Appl. Envi : Microbio.* 61: 4016-4021.

Aldrich, S.R. 1980. Nitrogen in relation to food, environment and energy. Spec. Pub. 61 Ag. Exp. Sta., Univ. of I11.

Beck, D.P. and D. N. Muns. 1985. Effect of calcium on the phosphorus nutrition of *Rhizobium meliloti*: *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 49: 334-337.

Beynon, J. L. and D. P., Josey. 1980. Demonstration of heterogeneity in a natural population of *Rhizobium phaseoli* using variation in instrinc antibiotic resistance. *Journal of General Microbiology* 118: 437-442.
Boonkerd, N. and R. W. Weaver. 1982. Suruival of cowpea rhizobia in soil as affected by soil temperature and moisture. *Appl. Envr. Microbiol.* 43: 585-589.
Boonkerd, N. and D. Baker. 1989. Interactions between plants and microorganisms in nitrogen-fixing symbioses. *In* G.Lim and K. Katsuya (eds.), Interactions Between Plants and Microorganisms. Proceedings of a JSPS-NUS Inter-faculty Semina, Singapore, pp. 160-169. Science Faculty, National University of Singapore.
Boonkerd, N. and S. Promsiri. 1993. Effectiveness in $N_2$ fixation of *Sesbania speciosa* and *Sesbania rostrata* rhizobia isolated from different locations. *The Kasetsart Journal* 27: 292-302.
Boonkerd, N., P. Wadisirisuk, G. Meromi and B.D. Kishinersky. 1993. Population size and $N_2$ fixing activity of native peanut rhizobia in soils of Thailand. *Biol. Fertil. Soils.* 15: 275-278.
Borneman, J., P. W. Skrcch, K. M. Sullivan, J. A. Palus, N. G. Rumijanek, J. L. Jansen, J. Nienhuis and E. W. Triplett. 1996. Molecular microbial diversity of on agricultural soil in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbial.* 62: 1935-1943.
Burns, R.C. and R.W.F. Hardy. 1975. Nitrogen fixation in bacteria and higher plants. Springer. Verlag Berlin. Heidelgerg. New York.
Choonleuchanon, S., N. Boonkerd and P. Swatdee. 1988. Adaptation of exotin Azolla to tropical environments of Thailand. *Plant and soil* 108: 67-70.
De Bruijn, F. J. 1992. Use of reptitive (repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergeneic consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. *Appl. Environ. Microbial.* 58: 2180-2187.
Duke, J. A. 1981. Handbook of Legumes of World Economic Importance. Plenum Press, New York.
Eaglesham, A. R. J. 1987. The Use of Intrinsic Antibiotic Resistant for Rhizobium study. Boyce Thompson Institute for Plant Research, New York. pp. 185-204.
Elkan, G. H. 1992. Taxonomy of the rhizobia. *Canadian Journal of Microbiology* 30: 446- 450.
Fani, R., C. Bandi, M. G. Bardin, S. Comincial, G. Damiani, A. Grifoni and M. Brazzicalupo. 1993. RAPD fingerprinting is useful for identification of *Azospirillum* strains. *Microbial Releases* 1: 217-221.
Frans, J. 1992. Use of repetitive (Repetitive Extragenic Plindromic and Enterobacterial Repetive Interginic Consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. *Appl. Micro. Environ.* 91: 2180-2185.
Fuhrmann, J. J. 1993. Population diversity grouping of soy bean *Bradyrhizobium*. *In* Advances in agronomy. Vol. 50, Academic Press, New York.
Grant, I.F., P.A. Roger and I. Watanabe. 1985. Effect of grazer regulation and algal inoculation on photodependent nitrogen fixation in a wetland rice field. *Biol. Fert. Soil.* 1: 61-72.
Graham, P.H. and C.A. Parker. 1964. Diagnostic features in the characterization of root nodule bacteria of legumes. *Plant and soil* 20: 384-396.
Ishac, Y.Z., M. J. Draft, E.M. Ramadan and M.E. Domerdash. 1986. Effect of and inoculation, mycorrhizal infection and organic amendment on wheat growth. *Plant and Soil* 90: 373-382.
Jamann, S., M.P. Fernandez and P. Normand. 1993. Typing method for $N_2$-fixing bacteria based on PCR-RELP application to the characterization of *Frankia* strains. *Mo1. Eco.* 2: 17-26.
Jordan, D.C. 1984. Rhizobiaceae. *In* N.R. Krieg and J.G. Holt (eds.), M. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. I., pp. 234-256. The Williums and Wilkins Co., Baltimore.
Kucey, R.M.N., P. Snitwonge, N. Boonkerd, P. chaiwanakupt, P. Wadisirisuk, C. Siripaibool, T. Arayangkool and R.J. Rennie. 1988. Nitrogen fixation ($^{15}$ N ditution) with soybeans under Thai field condition. I. Effect of *Bradyrhizobium Japonicum* strain. *Plant and soil* 108: 33-41.
Ladha, J.K. and N. Boonkerd. 1988. Biological nitrogen fixation by heterotrophic and phototrophic bacteria in association with straw. *In* . H. Wada, G. Blair and S. Panichapong.Paddy (eds.), Soil Fertility: Past, Present and Future.
Liu, Y. D., Y. W. Shen, L. R. Sog, C. X. Hu, S. B. Hyuang, J. S. Lu, Y. Z. Zhy, H. R. Zhuang and S. W. Gin. 1998. Species composition and distribution on blue-green algae from soil in the middle reach of Yellow River China. *In* Asiam Network on Microbial Researches Gadjah Mada University (GMU), pp. 392-401.The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN) Science and Technology Agency, Japan.
Malik, K.A. and R. Bital. 1989. Survival and colonization of inoculated bacteria in Kalla grass rhizosphere and quantification of $N_2$ fixation. *In* F.A. Shinner, R.M. Boddy and I Frendrik (eds.), Nitrogen Fixation with Non-Legumes, pp. 301-310. Kluneer Academic Publishers.
Madrzak, C.J., B. Golinska, J. Kroliczak, K. Pudelko, D. lazewska, B. Lampka and M.J. Sadowsky. 1995. Diversity among field populations of *Bradyrhizobium japonicum* in Poland. Appl. Envi Microbiol. 61 : 1194-1200.
Mellado, J.C. and E.M. Romeo. 1994. Limited genetic diversity in the endophytic sugarcane bacterium *Acetobacter diazotrophicus*. *Appl. Envi. Microbiol.* 60: 1532-1537.
Mueller, J. G., H. D. Skipper, E. R. Shipe, L. W. Grimes and S. C. Wagner. 1988. Intrin-sic antibiotic resistance in *Bradyrhizobium japonicum. Soil Biology and Biochemistry* 20: 879-882.
Nuntagij, A., M. Abe, T. Uchium, Y. Seki, N. Boonkerd and S. Higashi. 1997. Characterization of *Bradyrhizobium* strains isolated from soybean cultivation in Thailand. *J. Gen. Appl. Microbiol.* :43.
O'Hara, G. W., N. Boonkerd and M. J. Dilworth. 1988. Mineral constraints to nitrogen fixation. *Plant and Soil* 90: 3-6.
Okon, Y. and Y. Kapulnik. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant and soil* 90: 3-6.
Palmer, K. M. and J. P. W. Young. 2000. Higher Diversity of *Rhizibium leguminosarum* Biovar viciae Population in

Arable Soils than in Grass Soils. Applied and Environmental Microbiology, June 2000, pp. 2445-2450.
Reddy, P.M. and P.A. Roger. 1988. Dynamics of algal populations and acctylene-reducing activity in five rice soils inoculated with blue-green algae. *Biol. Fertil. Soils*. 6: 14-21.
Roger, P.R., W.J. Zimmerman and T.A. Lumpkin. 1992. Microbiological management of wet land rice fields. *In* F. aine Metting (ed.), Soil Microbial Ecology:Aplication in Agricultural and Environmental Management. Jr. Marcel Dekker, Inc.
Roger, P. A., S. Santiago-Ardales, P.M. Reddy and I. Watanabe. 1987. The abundance of heterocystous blue-green algae in rice soils and inocular used for application in rice fields. *Biol. Fertil. Soil.* 5: 98-105.
Roper, M.M.,and D.M. Halsall. 1989. Use of products of straw decomposition by $N_2$-fixing ($C_2H_2$- reducing) populations of bacteria in three soils from wheat-growing areas. *Australian J. of Agr. Res.* 37: 1-9.
Singleton, P. W., P. sornasegaran, P. L. Nako, H. N. Keyser, H. J. Hoben and P. I. Pergusn. 1990. Applied Biological Nitrogen Fixation Technology. A practical Guide for Extension spectelis TS Nitrogen Project. BNF Technology workshop Mayana District Fram Institute Uganda November 26-30, 1990. Makevere University Faculty of Agriculture and Uganda Cooperative Central Union. College of tropical Agriculture and Human. Res. D3-1/1, Udanda. pp. 260.
Siripin, S. 1986. Effect of $N_2$-fixing bacterial inoculation on the growth of some sugarcane cultivars. Master of Sciene Thesis. Kasetsart University, Bangkok.
Somasegaran, P and H.J. Hoben. 1994. Methods in legume-*Rhizobium* technology:Handbook for Rhizobia. Springer-Verlag.
Teaumroong, N. and N. Boonkerd. 1998. Detection of *Bradyrhizobium* spp. And *B. japomicum* in Thailand by primer-pased technology and direct DNA extraction. *Plant and soil* 204: 127-134.
Tien, T.M., M.H. Gaskins and D.H. Hubbell. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasileuse* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum L.*). Appl. Environment. *Microbioal.* 37: 1016-1024.
Ueda, T., Y. Sega, N. Yahiro and T. Matsuguchi. 1995. Genetic diversity of $N_2$-fixing bacteria associated with rice roots by moleccular evolutionary analysis of a *nif*D library. *Can. J. Microbiol.* 41: 235-240.
Van Berkum, P., J. J. Fuhrmann and B. D. Eardly. 2000. Phylogeny of rhizobium. Nitrogen Fixation: From Moleccules to Crop Productivity. 2000 Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. pp. 165-169.
Veda, T., Y. Suga and T. Matsuguchi. 1995. Molecular phylogenetic of soil microbial community is a soybean fiels. *En. J. of Soil Science* 46: 415-421.
Wani, S. P., S. Chandrapalaih and P. J. Dart. 1985. Response of pearl millet cultivars to inoculation with nitrogen-fixing bacteria. *Expl. Agric.* 21: 175-182.
Watanabe, I. 1981. Biological nitrogen fixation assoceated with wetland rice. *In* Current Perspectives in Nitrogen Fixation. Proceedings of The 4th International Symposium on Nitrogen Fixation, pp. 313-316. Australian Acedemy of Science, Australia.
Weaver, R. W. D.R. Morris, N. Boonkerd and J. Sij. 1987. Populations of *Bradyrhizobium japonicum* in field cropped with soybean-rice rotations. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 51: 90-92.
Xu, L. M., C. Ge, Z. Cu, J. Li and H. Fan. 1995. Bradyrhibium liaoningense sp. Nov., isolated from the root nodules of soybeans. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 706-711.
Yokoyama, T., S. Ando, N. Tomooka, D. Vaughan and K. Tsuchiya. 2000. Sustainable use of microorganisms-Characterization of *Bradyrhizobium* strain isolated from soybean (*Glycine max*) and wild Vigna species in Thailand. Proceeding of Symposium: Asian Network on Microbiological Research. Siam Inter-Continental, Bangkok, Thailand. August 28-29, 2000.
Young, J. P. W. 1993. Molecular phylogeny of rhizobia and their relatives. *In* R. Palacios. J. Mora and W. E. Newton (eds.), New horizons in nitrogen fixation, pp 587-597.Kluwer Academic Publishers, London.
Young, J. P. W. and K. E. Haukka. 1996. Diversity and phylogenetic of rhizobia. *New Phytol.* 133: 87-94.

# Testing Framework Tree Species for Restoring Biodiversity on Degraded Forestland in Northern Thailand

**Stephen Elliott[1], Puttipong Navakitbumrung[1], Cherdsak Kuarak[1], Sudarat Zangkum[1], David Blakesley[2] and Vilaiwan Anusarnsunthorn[1]**

[1]Forest Restoration Research Unit, Biology Department, Chiang Mai University, Muang District, Chiang Mai 50200

[2]Horticulture Research International, East Malling, West Malling, Kent, U.K.

**Abstract:** The framework species method of forest restoration is designed to restore diverse forest ecosystems on degraded forestland for biodiversity conservation or environmental protection. It involves planting 20-30 tree species to rapidly re-establish basic forest structure and ecological functioning, whilst accelerating natural forest regeneration. Framework tree species are those with high growth and survival rates when planted out in degraded areas. They should have dense spreading canopies to shade out herbaceous weeds and should provide resources to attract seed-dispersing wildlife. Tree planting restores basic ecosystem structure and function, whilst seed-dispersing wildlife re-establishes biodiversity and the original tree species composition of the forest.

**Key words:** forest restoration, tree species selection, seasonally dry tropical forest, frameworks tree species.

## Introduction

This paper presents results from experimental plots established to test this technique in a watershed at 1,207-1,310 m elevation in Doi Suthep-Pui National Park, northern Thailand. The area had formerly been evergreen forest and subsequently cleared and cultivated by Hmong hill-tribe people. Saplings, 50-60 cm tall, of 39 tree species were planted 1.6-1.8 m apart over 6 rai in 1998 and 1999 to test their potential to act as framework tree species. The planted trees were monitored for survival, growth, canopy width, evidence of flowering or fruiting and use by birds.

In the 1998 plots, five species maintained a 75% survival rate through to the end of the third growing season: *Bischofia javanica, Castanopsis calathiformis, Ficus altissima, Melia toosendan* and *Spondias axillaris.* In 1999, a short period without rain immediately after planting enabled identification of drought-tolerant species. Such species (with higher than 75% survival after the first growing season) were *Ficus benjamina, Ficus glaberrima, Ficus hispida, Ficus racemosa, Heynea trijuga, Hovenia dulcis* and *Rhus rhetsoides*. Fourteen species achieved a mean height of 1.5 m by the end of the second growing season: *Acrocarpus fraxinifolius, Balakata baccata, Castanopsis calithiformis, Erythrina subumbrans, Ficus hispida, Gmelina arborea, Hovenia dulcis, Macaranga denticulata, Melia toosendan, Michelia bailonii, Nyssa javanica, Prunus cerasoides, Rhus rhetsoides* and *Spondias axillaris.* Nine species achieved a canopy width of 1.8 m or more by the end of the second growing season, enabling them to close canopy with neighbours: *Acrocaprus fraxinifolius, Balakata baccata, Castanopsis calithiformis, Erythrina subumbrans, Ficus subulata, Macaranga denticulata, Melia toosendan, Prunus cerasoides* and *Spondias axillaris*. Four species (*Prunus cerasoides, Quercus semiserrata, Erythrina subumbrans* and *Ficus subulata*) produced flowers or fruits likely to attract seed-dispersing wildlife within 3 years. Tree species most commonly used as perches by birds were *Melia toosendan, Spondias axillaris, Prunus cerasoides, Balakata baccata, Gmelina arborea* and *Rhus rhetsoides*.

Considering all criteria combined, 16 species were classified as the most suitable framework tree species: *Balakata baccata, Castanopsis calithiformis, Erythrina subumbrans, Eugenia albiflora, Ficus hispida, Ficus racemosa, Gmelina arborea, Hovenia dulcis, Macaranga denticulata, Melia toosendan, Michelia bailonii, Nyssa javanica, Prunus cerasoides, Rhus rhetsoides, Sarcosperma arboreum* and *Spondias axillaris.*

One of the greatest threats to biodiversity in Thailand is undoubtedly destruction of the nation's once vast forests. Logging for timber and forest clearance to provide agricultural land has not only reduced the total area of wildlife habitat, but has also fragmented remaining forest into tiny patches, which are often incapable of supporting viable populations of wild animals and plants. One obvious remedy to deforestation is to replant denuded areas with native forest trees. Within national parks and wildlife sanctuaries, where conservation of biodiversity is the primary objective, tree

planting should aim to restore the original forest ecosystems as closely as possible. Although it is impractical to plant all tree species that may once have been present, it is possible to restore similar levels of tree species richness and ecosystem structure and function that were originally present before deforestation occurred. This is termed "forest restoration", in contrast to "reforestation", which refers to any kind of tree planting including establishment of commercial plantations, agro-forestry, social forestry, etc. (Elliott, 2000).

One technique that has been successfully employed to restore tropical forests to degraded areas in Queensland, Australia, is the "framework tree species" method of forest restoration (Goosem and Tucker, 1995; Lamb et al., 1997; Tucker and Murphy, 1997). In this method, 20 to 30 native forest tree species are planted to shade out herbaceous weeds and attract wildlife into planted areas. Such trees re-establish basic forest structure, whilst “catalysing” the recovery of biodiversity by attracting seed-dispersing wildlife and creating conditions favourable for seed germination of forest plants.

Framework tree species must be able to perform well, with high survival and growth rates, in the sunny, hot and dry conditions that prevail in open deforested sites. They must also be able to compete well with herbaceous weeds, by having dense spreading canopies that rapidly shade out the weeds. Framework tree species should also provide resources for wildlife, such as fruits, nectar, nesting sites or roosting sites for birds or mammals, preferably at an early age (Goosem and Tucker, 1995). Wildlife attracted into the plots will bring seeds with them of many other tree species. When those seeds germinate, they gradually increase tree species richness in the planted plots and restore the original species composition of the tree community. Another desirable characteristic of framework tree species is resilience to fires, which are common in deforested areas in northern Thailand. Finally, framework tree species should be easy to propagate in nurseries, so that they can be readily included in reforestation programs.

Although tree selection for commercial plantations has been extensively researched, selecting tree species to restore diverse tropical forests for environmental protection has only recently received attention. In Brazil, Knowles and Parrotta (1995) devised a semi-quantitative scoring system to rank 160 tree taxa in order of their suitability for mixed tree species plantings to restore open-cast bauxite mines, based on 3 criteria: seed germination treatment requirements, alternatives for the production of planting stock and early growth and survival. Goosem and Tucker (1995) presented the basic criteria of framework species and published lists of 12 groups of framework species for planting in the 12 ecological mapping units of the Queensland Wet Tropics World Heritage Area, defined by altitude, climate and geology. The criteria listed for the selection of framework species included tolerance of the harsh conditions in deforested sites, growth rate, canopy density, attractiveness to wildlife, ease of propagation, regenerative ability and limited seed-dispersal mechanisms. However, no data quantifying the extent to which the listed species met the criteria specified were presented. In Queensland, the successfulness of the framework species method in rapidly increasing forest tree species richness was clearly demonstrated by Tucker and Murphy (1997). They reported that framework species plots, under various site conditions, became colonised by 15-49 naturally establishing tree species by 5-7 years after planting.

The paper presented here describes an experiment to test the framework tree species method of forest restoration in a conservation area in the highlands of northern Thailand. It represents the first published quantitative assessment of the degree to which tree species meet framework species criteria and suggests standards for species selection for forest restoration.

## Methods

### *Study Site*

The locations of experimental plots to test the framework species method of forest restoration were decided in collaboration with staff of Doi Suthep-Pui National Park Headquarters and the villagers of Ban Mae Sa Mai, an Hmong hill tribe community in the north of the park. After discussions, the plots were positioned in a degraded watershed area 3-5 km from the village (18° 52’N, 94° 51’E), 1,207-1,310 m above sea level. The villagers were also closely involved with planting, maintaining and monitoring the plots.

Originally the study site had been covered with evergreen forest, which was cleared approximately 20 years previously and the area cultivated for cabbages, corn, potatoes etc. Frequent fires caused additional degradation. Although a few scattered mature trees remained, at the beginning

of the experiment, the area was dominated by herbaceous weeds such as *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Dennstaedtiaceae), *Bidens pilosa* L. var. *minor* (Bl.) Sherf, *Ageratum conyzoides* L., *Eupatorium odoratum* L. and *E. adenophorum* Spreng. (all Compositae), *Commelina diffusa* Burm. F. (Commelinaceae) and grasses e.g. *Phragmites vallatoria* (Pluk. ex L.) Veldk., *Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv. var. *major* (Nees) C.E. Hubb. ex Hubb. & Vaugh. and *Thysanolaena latifolia* (Roxb. ex Horn.) Honda (both Gramineae). Compared with soil in undisturbed evergreen forest at a similar elevation, soil in the study site was significantly more acidic and it had significantly less organic matter, less nitrogen, more sand and less silt and clay (Table 1, $p<0.05$).

Table 1. Soil characteristics of the study site (degraded area) (n=16) compared with those in undisturbed evergreen forest (Tum Reusi, elevation 1,100 m about 9 km from the study site) (n=20).

| | Degraded Area | | Evergreen Forest | | t-test[1] |
|---|---|---|---|---|---|
| | Mean | SD | Mean | SD | p values |
| ph | 5.44 | 0.423 | 6.22 | 0.545 | 0.001 |
| Organic Matter (%) | 5.35 | 0.997 | 7.30 | 2.480 | 0.010 |
| Nitrogen (%) | 0.26 | 0.045 | 0.37 | 0.121 | 0.002 |
| Potassium (ppm) | 274.84 | 137.637 | 295.67 | 72.093 | ns[2] |
| Moisture at field capacity (%) | 34.76 | 2.571 | 35.35 | 4.363 | ns[2] |
| Sand (%) | 68.52 | 6.290 | 52.13 | 17.872 | 0.010 |
| Silt (%) | 18.26 | 3.090 | 22.04 | 5.473 | 0.020 |
| Clay (%) | 13.22 | 3.880 | 25.83 | 16.343 | 0.010 |

[1]Two-tailed Student's t-test, variances assumed equal, [2]ns = not significant at $p>0.05$

The area has two main seasons: the wet season (May - October) and the dry season (mean monthly rainfall below 100 mm, November - April). The dry season is subdivided into the cool-dry season (November to January) and the hot- dry season (February to April). Average annual rainfall, recorded at the nearest weather station to the study site at similar elevation (Kog-Ma Watershed Research Station), was 2,094.9 mm. Temperatures varied from a minimum of 4.5°C in December to a maximum of 35.5°C in March (Fig. 1).

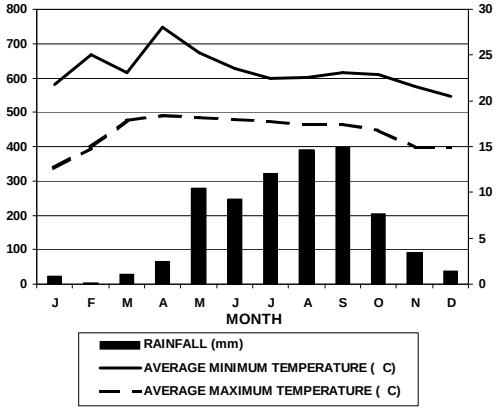



Figure 1. Average monthly rainfall, minimum and maximum temperatures at Kog-Ma Watershed Research Station (elevation 1,400 m) approximately 9 km from the study site (1966-83).

### *Selecting the Potential Framework Tree Species*

The tree species selected for the experiment were those judged to have the highest potential to act as framework species, as defined in the introduction, based on existing data from FORRU's research on the indigenous trees of Doi Suthep-Pui National Park collected since 1994. Such data included germination and early seedling growth characteristics of over 400 tree species and phenology and fruit characteristics of more than 100 species (Pakaad et al, 1999). Studies of seedling growth in the nursery enabled compilation of species production schedules (Kuarak et al, 2000, Elliott et al.(in press), Blakesley et al.(inpress), whilst pilot planting trials in 1995-1997 enabled identification of some species likely to perform well in deforested sites.

### *Establishing the Plots*

The saplings planted were grown from seed collected from trees within Doi Suthep-Pui National Park. Seeds were germinated in open plastic trays and potted into 9 x 2.5 inch black plastic bags in a medium of forest soil, coconut husk and peanut husk mixed in the ratio of 2:1:1. Saplings were grown for 3-18 months (depending on species) at FORRU's research nursery at the national park headquarters (at about 1,000 m above sea level) or at the community tree nursery established by FORRU at Ban Mae Sa Mai in the north of the park. They were mostly 50-60 cm tall at the time of planting.

Saplings were planted at a density of 500 per rai, averaging a mean distance between plants of 1.8 metres, with 29 or 30 species planted in each plot. The planting mixture varied from year to year as species with unreliable performance in previous years were removed from the planting list and replaced with new species considered to be potential framework species on the basis of newly acquired data.

The data presented in this paper come from plots planted in mid-June in 1998 and 1999; three

replicated 1-rai plots were established in each year. About 1 month before planting, the plots were demarcated with large wooden poles and the weeds slashed with hand tools to reveal any naturally established trees or saplings. About a week after cutting the weeds, the area was sprayed with a single application of the non-residual herbicide, glyphosate to kill weed roots and prevent immediate regrowth. During all weeding operations, care was taken to avoid cutting or spraying natural trees or saplings.

June was selected, as the optimal planting month, because usually the rains had become regular by then and planted saplings would have the maximum time for growth and development (especially the root system) before the onset of the dry season. Saplings were transported from FORRU's research nursery and from a community tree nursery at Ban Mae Sa Mai to the upper watershed planting area in baskets loaded onto a small truck. Each time, planting was carried out in a single day with up to 180 people participating, including Ban Mae Sa Mae villagers, RFD officers, CMU students and FORRU staff and volunteers. One hundred grams of fertiliser (NPK 15-15-15, Rabbit Brand) was mixed in with loose soil at the bottom of each planting hole when each tree was planted. Subsequently, weeding with hand tools was carried out 3 times during the rainy season at 4-6 week intervals. Immediately after weeding, further 100-g doses of fertiliser were applied in a ring around each tree (at least 30 cm away from the stem to avoid chemical burning). Full details of the nursery propagation, transport, planting and maintenance procedures used have already been published by the Forest Restoration Research Unit (1998 & 2000).

***Monitoring***

All trees were labelled in the nursery before planting. The labels used were thin bands of aluminium, manufactured for bundling electrical cables and capable of being fastened into a circle about 3 cm in diameter. Unique identification numbers were punched into the labels, which were then placed around the stems of the seedlings to be planted. As the trees grew, they often began to stretch the labels, at which point the labels were removed, straightened out and re-attached to the tree trunks at breast height with a nail.

Planted trees were monitored about 2 weeks after planting and at the end of the rainy season, cool season and dry season in the first year and annually at the end of the rainy season thereafter.

Measurements included height (distance from ground level to the highest meristem measured by tape measure or telescopic measuring pole); root collar diameter (measured using callipers with a vernier scale); canopy width (at widest point using a tape measure); health score (3 = perfect or nearly perfect health, 2 = slight insect damage or discoloration, 1 = severe insect damage or discoloration and 0 = believed to be dead); weed score (also measured on a 3 point scale indicating zero to full cover of weeds in a 1 m circle around the base of the tree) and shade score (from 3 = canopy of planted tree totally shade by other vegetation to 0 = canopy of planted tree totally exposed). Not all parameters were measured at every survey, but each parameter was measured at least once per year.

Attractiveness to wildlife was assessed by direct observation of flowering and fruiting of the planted trees and provision of other wildlife resources during routine monitoring. In addition, a survey of birds was undertaken in January 2001. During a total of 60 hours of observation, evenly spread amongst the six plots (10 h per plot), any birds perching in any of the planted trees were recorded.

## Results

Here we present data on four of the most important characteristics of framework species: survival, growth, canopy width and attractiveness to wildlife, for all tree species planted in 1998 and 1999 that maintained a sufficiently large sample size until the end of 2000 to enable meaningful analysis (Tables 2 and 3).

***Survival***

In plots planted in 1998, survival through the first growing season was very high. Only 3 (13%) (*Diospyros glandulosa*, *Gmelina arborea* and *Manglietia garrettii*) of the 23 species with sufficiently large sample sizes for analysis failed to attain 75% survival. Further reductions in mean percentage survival averaged across species, in subsequent years were only 10.7% (SD 14.72) between the end of the first and end of the second growing seasons and 13.5% (SD 6.86) between the end of the second and end of the third growing seasons. In particular, *Garcinia mckeaniana* suffered a 60% reduction in survival between the first and second growing seasons with only 15% of saplings planted surviving until the end of the third growing season. This shade-loving, climax tree species was clearly unable to withstand the dry, sunny conditions in open deforested areas and should be rejected as a framework species.

Table 2. Relative performance of tree species planted in 1998.

| Species | Family | End of 1st Growing Season | | | End of 2nd Growing Season | | | | End of 3rd Growing Season | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | % survival | Mean Height | SD | % survival | Mean Height | SD | Mean Canopy Width | % survival | Mean Height | SD |
| *Aglaia lawii* (Wight) Sald. & Rama. | Meliaceae | 78.87 | 29.31 | 8.82 | 54.93 | 36.94 | 13.28 | 34.75 | 25.35 | 42.20 | 27.93 |
| *Alseodaphne* sp. | Lauraceae | 88.89 | 41.50 | 9.15 | 83.33 | 110.29 | 25.77 | 87.57 | 69.44 | 210.00 | 75.72 |
| *Bischofia javanica* Bl. | Euphorbiaceae | 94.05 | 44.29 | 9.74 | 86.90 | 86.90 | 23.34 | 87.90 | 80.95 | 147.20 | 26.45 |
| *Castanopsis calathiformis* (Skan) Rehd. & Wils. | Fagaceae | 95.83 | 68.83 | 21.93 | 95.83 | 213.50 | 83.40 | 182.00 | 79.17 | 409.50 | 88.35 |
| *Cinnamomum caudatum* Nees | Lauraceae | 87.50 | 59.83 | 7.33 | 83.33 | 91.60 | 19.37 | 83.00 | 70.83 | 139.33 | 32.70 |
| *Diospyros glandulosa* Lace | Ebenaceae | 69.44 | 45.55 | 15.51 | 37.04 | 126.40 | 56.29 | 85.30 | 30.56 | 247.91 | 84.77 |
| *Erythrina subumbrans* (Hassk.) Merr. | Papilionoideae | 95.83 | 117.00 | 28.86 | 89.58 | 258.73 | 87.43 | 261.55 | 66.67 | 458.57 | 124.56 |
| *Eugenia albiflora* Duth. ex Kurz | Myrtaceae | 75.00 | 67.50 | 24.75 | 75.00 | 124.50 | 13.44 | 100.00 | 66.67 | 170.00 | 42.43 |
| *Ficus altissima* Bl. | Moraceae | 93.88 | 38.00 | 16.08 | 85.71 | 117.11 | 51.26 | 91.56 | 75.51 | 204.25 | 85.48 |
| *Garcinia mckeaniana* Craib | Guttiferae | 83.33 | 30.27 | 6.41 | 23.33 | 71.50 | 13.44 | 71.50 | 15.00 | 119.50 | 50.20 |
| *Gmelina arborea* Roxb. | Verbenaceae | 70.83 | 82.55 | 20.49 | 70.83 | 160.80 | 42.26 | 146.30 | 54.17 | 283.22 | 92.76 |
| *Helicia nilagirica* Bedd. | Proteaceae | 84.38 | 42.95 | 8.17 | 67.71 | 74.06 | 36.78 | 57.50 | 57.29 | 119.00 | 51.44 |
| *Heynea trijuga* Roxb. Ex Sims | Meliaceae | 95.83 | 49.17 | 13.17 | 87.50 | 113.08 | 56.45 | 66.17 | 66.67 | 242.50 | 45.73 |
| *Hovenia dulcis* Thunb. | Rhamnaceae | 81.67 | 85.33 | 24.22 | 76.67 | 155.10 | 49.27 | 133.90 | 65.00 | 242.50 | 51.97 |
| *Manglietia garrettii* Craib | Magnoliaceae | 52.29 | 58.29 | 18.55 | 46.79 | 145.55 | 41.25 | 124.36 | 38.53 | 288.20 | 92.51 |
| *Melia toosendan* Sieb. & Zucc. | Meliaceae | 98.33 | 141.03 | 33.58 | 98.33 | 535.15 | 180.03 | 255.23 | 86.67 | 780.00 | 113.53 |
| *Nyssa javanica* (Bl.) Wang. | Nyssaceae | 82.61 | 66.90 | 17.90 | 73.91 | 153.75 | 14.98 | 163.50 | 65.22 | 287.50 | 62.92 |
| *Phoebe lanceolata* (Nees) Nees | Lauraceae | 91.67 | 43.76 | 13.30 | 83.33 | 74.80 | 25.08 | 57.20 | 62.50 | 120.20 | 19.38 |
| *Prunus cerasoides* D.Don | Rosaceae | 88.33 | 109.17 | 33.61 | 88.33 | 241.00 | 66.65 | 188.70 | 61.67 | 463.75 | 123.40 |
| *Quercus semiserrata* Roxb. | Fagaceae | 90.00 | 53.35 | 10.76 | 73.33 | 104.50 | 47.48 | 68.20 | 48.33 | 186.75 | 65.61 |
| *Sapindus rarak* DC. | Sapindaceae | 88.24 | 59.75 | 23.91 | 75.29 | 107.93 | 46.76 | 77.73 | 55.29 | 240.54 | 92.75 |
| *Sarcosperma arboreum* Bth. | Sapotaceae | 89.41 | 51.74 | 14.58 | 75.29 | 100.60 | 21.25 | 100.67 | 64.71 | 181.60 | 31.72 |
| *Spondias axillaris* Roxb. | Anacardiaceae | 95.88 | 89.83 | 23.64 | 93.81 | 255.68 | 70.92 | 213.53 | 81.44 | 529.56 | 102.75 |

Table 3. Relative performance of tree species planted in 1999.

| Species | Family | End of 1st Growing Season | | | End of 2nd Growing Season | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | % survival | Mean Height | SD | % survival | Mean Height | SD | Mean Canopy Width |
| *Acrocarpus fraxinifolius* Wight ex Arn. | Caesalpinioideae | 27.08 | 65.10 | 24.86 | 16.67 | 210.00 | 107.11 | 192.57 |
| *Balakata baccata* (Roxb.) Ess. | Euphorbiaceae | 54.17 | 97.25 | 18.39 | 39.58 | 309.45 | 67.65 | 253.91 |
| *Calicarpa arborea* var. *arborea* | Verbenaceae | 45.83 | 48.27 | 24.09 | 18.75 | 118.86 | 71.67 | 94.43 |
| *Castanopsis acuminatissima* (Bl.) A. DC. | Fagaceae | 64.58 | 75.18 | 13.27 | 47.92 | 135.21 | 41.33 | 112.14 |
| *Cinnamomum caudatum* Nees | Lauraceae | 39.58 | 45.13 | 13.20 | 18.75 | 102.11 | 32.36 | 111.11 |
| *Erythrina subumbrans* (Hassk.) Merr. | Papilionoideae | 60.42 | 78.67 | 27.66 | 41.67 | 281.50 | 51.04 | 280.20 |
| *Ficus benjamina* L. var. *benjamina* | Moraceae | 77.08 | 55.09 | 11.89 | 50.00 | 77.73 | 44.95 | 81.00 |
| *Ficus glaberrima* Bl. var. *glaberrima* | Moraceae | 81.63 | 56.64 | 17.36 | 63.27 | 117.08 | 45.95 | 110.50 |
| *Ficus heterophylla* L. f. var. *heterophylla* | Moraceae | 68.75 | 47.58 | 22.15 | 31.25 | 77.40 | 51.12 | 65.10 |
| *Ficus hispida* L. f. var. *hispida* | Moraceae | 87.50 | 62.47 | 25.06 | 60.42 | 159.64 | 85.46 | 126.91 |
| *Ficus racemosa* L. var. *racemosa* | Moraceae | 79.17 | 77.20 | 24.26 | 58.33 | 140.80 | 47.95 | 115.90 |
| *Ficus subulata* Bl. Var. *subulata* | Moraceae | 60.42 | 44.08 | 20.65 | 27.08 | 72.29 | 66.83 | 182.25 |
| *Glochidion kerrii* Craib | Euphorbiaceae | 47.92 | 43.38 | 12.97 | 22.92 | 75.00 | 29.50 | 61.22 |
| *Gmelina arborea* Roxb. | Verbenaceae | 62.50 | 75.07 | 13.01 | 37.50 | 180.11 | 53.36 | 159.89 |
| *Heynea trijuga* Roxb. ex Sims | Meliaceae | 77.08 | 44.46 | 16.55 | 52.08 | 100.92 | 41.72 | 62.58 |
| *Hovenia dulcis* Thunb. | Rhamnaceae | 91.67 | 119.40 | 16.62 | 66.67 | 223.08 | 44.42 | 148.46 |
| *Lithocarpus fenestratus* (Roxb.) Rehd. | Fagaceae | 37.50 | 55.45 | 11.18 | 20.83 | 109.88 | 30.39 | 70.88 |
| *Macaranga denticulata* (Bl.) M.-A. | Euphorbiaceae | 35.42 | 88.25 | 29.00 | 20.83 | 259.00 | 106.46 | 200.86 |
| *Melia toosendan* Sieb. & Zucc. | Meliaceae | 68.75 | 150.14 | 41.43 | 52.08 | 705.83 | 309.47 | 235.25 |
| *Michelia baillonii* Pierre | Magnoliaceae | 62.50 | 79.27 | 10.76 | 56.25 | 205.47 | 71.47 | 156.20 |
| *Nyssa javanica* (Bl.) Wang. | Nyssaceae | 52.08 | 76.78 | 13.30 | 50.00 | 219.83 | 37.24 | 165.83 |
| *Phoebe cathia* (D. Don) Kosterm. | Lauraceae | 20.83 | 46.63 | 19.64 | 16.67 | 79.63 | 19.03 | 77.13 |
| *Prunus cerasoides* D. Don | Rosaceae | 52.08 | 92.00 | 41.57 | 29.17 | 303.33 | 37.24 | 241.67 |
| *Quercus semiserrata* Roxb. | Fagaceae | 56.25 | 58.67 | 11.33 | 37.50 | 114.89 | 24.92 | 66.00 |
| *Rhus rhetsoides* Craib | Anacardiaceae | 77.78 | 93.93 | 26.99 | 65.08 | 306.75 | 94.30 | 135.75 |
| *Sapindus rarak* DC. | Sapindaceae | 39.58 | 53.00 | 19.05 | 25.00 | 126.50 | 45.56 | 92.30 |

By the end of the second growth season, 15 (65%) out of the 23 species maintained excellent survival (>75%), whilst an additional 3 species maintained an acceptable survival rate of >50% Table 2.

Five species exhibited unacceptably low survival by the end of the third growing season (<50%): *Aglaia lawii*, *Diospyros glandulosa*, *Garcinia mckeaniana*, *Manglietia garrettii* and marginally *Quercus semiserrata*. Particularly high-performing species that maintained a 75% or higher survival rate through to the end of the third growing season were *Bischofia javanica*, *Castanopsis calathiformis, Ficus altissima, Melia toosendan* and *Spondias axillaris*.

For all species planted in both 1998 and 1999, except *Hovenia dulcis*, percentage survival was lower in 1999 than in 1998 (Tables 2 and 3). This was due to a 5-day period with no rain, immediately after planting. Since the plots are well above any springs or streams, and difficulty of access makes transportation of large quantities of water impractical, we rely on rain falling shortly after planting, to help establish the trees. The results show that even a few days without rain, immediately after planting, can dramatically increase mortality.

However, the situation also enabled identification of species that are particularly resistant to drought immediately after planting. Such species (with higher than 75% survival after the first growing season) were *Ficus benjamina, Ficus glaberrima, Ficus hispida, Ficus racemosa, Heynea trijuga, Hovenia dulcis* and *Rhus rhetsoides.* The hardiness of the figs, *Ficus* spp, was a notable feature of these data. Reduction in percentage survival during the second growing season averaged 19.2% (SD 8.25) ranging from only 2.1% for *Nyssa javanica* up to 37.5% for *Ficus heterophylla*.

Ten (38%) of the 26 species with sufficiently large sample sizes tested in 1999 had acceptable survival rates (50% or more at the end of the second growing season): *Ficus benjamina, Ficus glaberrima, Ficus hispida, Ficus racemosa, Heynea trijuga, Hovenia dulcis, Melia toosendan, Michelia baillonii, Nyssa javanica* and *Rhus rhetsoides.* Although other species planted in 1999 had unacceptably low percentage survival, they should not be automatically rejected as framework species, because the unusually dry period after planting increased mortality that year (Table 3).

***Growth***

Deciding on an acceptable standard of height growth to meet framework species criteria can only be arbitrary and could vary with site or climatic conditions. For the purposes of this analysis, we considered that a mean height of 1.5 m or more by the end of the second growing season was an acceptable size. This amounts to a more than doubling or trebling of seedling height within 18 months.

Fourteen species met this standard in one or both of the 1998 or 1999 plantings: *Acrocarpus fraxinifolius, Balakata baccata, Castanopsis calithiformis, Erythrina subumbrans, Ficus hispida, Gmelina arborea, Hovenia dulcis, Macaranga denticulata, Melia toosendan, Michelia bailonii, Nyssa javanica, Prunus cerasoides, Rhus rhetsoides* and *Spondias axillaris* (Table 1 and 2).

*Melia toosendan* was consistently the fastest growing tree in both the 1998 and 1999 plantings. At the end of the second growing season after planting in the 1998 plot, *Melia toosendan* had the highest mean height (535.15 cm), followed by *Erythrina subumbrans* (258.73 cm), *Spondias axillaris* (255.68 cm) and *Prunus cerasoides* (241.00 cm). In the 1999 plot, *Melia toosendan* also had the highest mean height (705.83 cm), followed by *Balakata baccata* (309.45 cm), *Rhus rhetsoides* (306.75 cm) and *Prunus cerasoides* (303.33 cm).

All species planted in both 1998 and 1999 grew more rapidly in 1999 than in 1998. This might have been due to the selective effects of the post-planting dry period, which killed off weakened seedlings in 1999, leaving only the more vigorous ones for growth measurement at the end of the second growth season. Death of seedlings that succumbed to the dry spell thinned out the plots. This might have reduced competition amongst the remaining trees, enabling more vigorous growth.

***Canopy Width***

Canopy width, measured at the widest point, provides a convenient index of the ability of a species to close canopy and shade out weeds. In this case, a standard does present itself. Since the trees were planted 1.8 m apart (494 per rai), a canopy width of 1.8 m or more, by the end of the second growing season, would enable a tree to close canopy with its nearest neighbours.

Only 9 species met this standard in either or both the 1998 and 1999 plantings: *Acrocaprus fraxinifolius, Balakata baccata, Castanopsis calithiformis, Erythrina subumbrans, Ficus subulata, Macaranga denticulata, Melia toosendan, Prunus cerasoides* and *Spondias axillaris* (Tables 2 and 3).

At the end of the second growing season after planting, species with the highest mean canopy width were *Erythrina subumbrans* (280.20 cm in the 1999 plot and 261.55 cm in the 1998 plot), followed by *Melia toosendan* (255.23 cm in the 1998 plot and 235.25 cm in the 1999 plot), *Balakata baccata* (253.91 cm in the 1999 plot), *Prunus cerasoides* (241.67 cm in the 1999 plot) and *Spondias axillaris* (213.53 cm in the 1998 plot).

***Potential Attractiveness to Wildlife***

Since trees usually take a long time to reach maturity and produce flowers or fruits likely to

attract wildlife, it was not possible to fully assess the likely attractiveness to wildlife of all the species within the time frame of this project. However, four species did start to produce flowers and fruits likely to be attractive to animals within 3 years. *Prunus cerasoides* produced fruit (red, fleshy drupes) 2.5 years after planting; *Ficus subulata* produced figs almost continuously from the time of planting onwards; *Erythrina subumbrans* produced nectar-rich flowers 2.5 years after planting and one specimen of *Quercus semiserrata* produced acorns 1.5 years after planting.

During the bird survey the following trees were most commonly used as perching sites were *Melia toosendan, Spondias axillaris, Prunus cerasoides, Balakata baccata, Gmelina arborea* and *Rhus rhetsoides*. Other species occasionally used were *Diospyros glandulosa, Sarcosperma arboreum, Bischofia javanica, Erythrina subumbrans, Ficus altissima, Acrocarpus fraxinifolius, Ficus racemosa, Ficus hispida, Hovenia dulcis, Phoebe lanceolata, Macaranga denticulata* and *Sapindus rarak.*

## Discussion

There can be no inviolable absolute standards to determine whether or not a tree species meets framework criteria. Tree species meeting framework standards on one site might fail to do so on another due to variations in site conditions. Large differences in the survival rates of the same tree species planted in 1998 and 1999 highlighted the strong influence of even minor fluctuations in local climatic conditions on the ability of tree species to meet framework standards. Therefore, the process of selecting framework species should be based on comparisons among species at each particular site planted at the same time and the standards applied could be varied to take into account variations in climatic or site conditions. One analogy is the way that pass marks of school exams are varied among years or among classes based on the average performance of students in each year.

The data also demonstrated that it is uncommon for one tree species to exceed all framework standards. The aim should be to plant a mixture of 20-30 relatively high performing tree species that collectively create the essential elements of a framework forest. Practitioners of forest restoration should always bear in mind that the ultimate aim is to re-create diversity and ecological functioning. If all tree species planted met all framework species standards, the result might be a uniform canopy formed by fast growing, similarly structured, broad-crowned trees. Therefore, some tolerance of tree species that fail to meet one of the framework standards can be accepted or even encouraged, if they are suitable in most other respects.

Survival rate is the most important criterion. Low percentage survival necessitates expensive re-planting and is the most important reason for rejecting a tree species as a framework species. Growth rate is secondary to survival. Most of the trees planted must be able to grow rapidly in order to over-top the weeds. However, some tolerance of slow growing species can be accepted in order to diversify the canopy structure and create understorey niches for wildlife. Although an ability to shade out weeds, by having a dense, broad canopy is necessary for most tree species, to reduce weeding costs, some trees with narrow crowns can be accepted in the planting mixture, if they perform well in other respects. One example of this was *Melia toosendan*. This species was consistently the fastest growing of all those planted, with high survival rates. Relative to its height, the tree maintained a narrow monopodial crown, which was very inefficient at shading out weeds, but which provided excellent perching sites for birds to detect prey and display, being so high above the rest of the vegetation. In the third growing season after planting, however, the crown began to branch, creating an emergent layer of very broad tree crowns. If all framework species criteria had been strictly imposed, this very useful species might have been rejected on the basis of its narrow crown in the first two years after planting. This example also illustrates the need for long-term studies to determine the ultimate contributions of planted framework tree species to the ecology of forest recovery.

The ability of trees to attract wildlife into planted plots was one of the weakest aspects of this study. Attractiveness to wildlife is a property that develops over time and can only be assessed by direct observation, once the trees mature and begin to flower and fruit. The ability of attracted wildlife to deposit seeds and the extent to which such seeds would germinate and enhance forest plant diversity requires more detailed research, outside the scope of the study presented here. This again emphasises the need for long-term studies of planted areas, to assess the outcome of forest restoration plantings. It also identifies a need for further studies of interactions between wildlife and mature individuals of potential framework tree species in natural forest.

## Conclusions

Considering the full combination of the criteria described above, the following 6 species exceeded all the standards and can, therefore, be regarded as the ones most likely to act as framework species: *Balakata baccata*, *Castanopsis calathiformis*, *Erythrina subumbrans*, *Melia toosendan*, *Prunus cerasoides* and *Spondias axillaris.* An additional 10 species came very close to attaining most of the framework species standards or failed to achieve just one. They can also be regarded as framework species, if planted in combination with the 6 previously mentioned species. They were *Eugenia albiflora*, *Ficus hispida* var. *hispida*, *Ficus racemosa* var. *racemosa*, *Gmelina arborea*, *Hovenia dulcis*, *Macaranga denticulata* , *Michelia baillonii*, *Nyssa javanica*, *Rhus rhetsoides* and *Sarcosperma arboreum.*

Finally, the following species had high survival rates but marginally failed to meet several of the other framework criteria. They might be useful as framework species after further research to improve the quality of the planting stocking and to improve silvicultural practices. They were *Bischofia javanica*, *Castanopsis acuminatissima*, *Cinnamomum caudatum*, *Ficus altissima*, *Ficus benjamina* var. *benjamina*, *Ficus glaberrima* var. *glaberrima*, *Ficus subulata* var. *subulata*, *Helicia nilagirica*, *Heynea trijuga*, *Phoebe lanceolata*, *Quercus semiserrata* and *Sapindus rarak.*


## Acknowledgements

FORRU was founded with financial support from Riche Monde (Bangkok) Ltd., United Distillers PLC. and Shell Forestry Limited. The Biodiversity Research and Training Programme and the Science Faculty of Chiang Mai University sponsored the research described in this paper. Other donors have included The Fagus Anstruther Memorial Trust, The Peter Nathan Trust, The Robert Kiln Charitable Trust, The Barbara Everard Trust for Orchid Conservation, Mr. Alan and Mrs. Thelma Kindred, Mr. Nostha Chartikavanij, Mr. R. Butterworth, The Ponadan Project and Mr. James C. Boudreau. The authors thank J. F. Maxwell for identifying the tree species named in this paper. Voucher specimens are stored at the Chiang Mai University Herbarium, Biology Department. The authors are grateful to all research assistants and volunteers who assisted with data collection and processing and care of the plants in the nursery including: Jumpee Bunyadit, Thonglaw Seethong, Tim Rayden, Kevin Woods, Rungtiwa Bunyayod and Janice Kerby. The Head and staff of Doi Suthep-Pui National Park Headquarters provide essential collaboration for FORRU's research. We are especially grateful to the Head of the National Park, Mr. Suchai Apinyan, Mr. Amporn Panmongkol (Deputy Head) and Mr. Prasert Saentaam. We are deeply indebted to Naeng Zedong and his wife Nahor Zedong for taking care of the nursery at Ban Mae Sa Mai. Finally, this project would not have been possible without the support and active participation of the villagers of Ban Mae Sa Mai. We thank them all and especially members of the village conservation committee.


## References


Blakesley, D., S. Elliott, C. Kuarak, P. Navakitbumrung, S. Zangkum and V. Anusarnsunthorn in press. Propagating framework tree species to restore seasonally dry tropical forest: implications of seasonal seed dispersal and dormancy. *Forest Ecology and Management.*

Elliott, S. 2000. Defining forest restoration for wildlife conservation. *In* Elliott, S., J., Kerby, D. Blakesley, K. Hardwick, K. Woods and V. Anusarnsunthorn (eds.), Forest Restoration for Wildlife Conservation, pp 13-17. Chiang Mai University.

Elliott, S., C. Kuarak, P. Navakitbumrung, S. Zangkum, V. Anusarnsunthorn and D. Blakesley in press. Propagating framework trees to restore seasonally dry tropical forest in northern Thailand. *New Forests*.

Goosem, S. and N. I. J. Tucker. 1995. Repairing the Rainforest. Wet Tropics Management Authority, Cairns, Australia, 72 pp.

Knowles, O. H. and J. A. Parrotta. 1995. Amazonian forest restoration: an innovative system for native species selection based on phenological data and field performance indices. *Commonwealth Forestry Review* 74(3): 230-243.

Kuarak, C., S. Elliott, D. Blakesley, P. Navakitbumrung, S. Zangkum and V. Anusarnsunthorn. 2000. Propagating native trees to restore degraded forest ecosystems in northern Thailand. In Elliott, S., J., Kerby, D. Blakesley, K. Hardwick, K. Woods and V. Anusarnsunthorn (eds.), Forest Restoration for Wildlife Conservation, pp 256-263. Chiang Mai University.

Lamb. D., J. Parrotta, R. Keenan and N. Tucker. 1997. Rejoining habitat fragments: restoring degraded forest lands. *In* Laurance, W. F. and R. O. Bierregaard (eds.), Tropical Forest Remnants: Ecology, Management and Conservation of Fragmented Communities, pp. 366-385. University of Chicago Press.

Pakkad, G., S. Elliott, J. F. Maxwell and V. Anusarnsunthorn. 1999. Morphological database of fruits and seeds of trees in Doi Suthep-Pui National Park. In "Research Reports on Biodiversity in Thailand", pp 222-228. The Biodiversity Research and Training Program (BRT), Bangkok.

Tucker, N. and T. Murphy. 1997. The effects of ecological rehabilitation on vegetation recruitment: some observations from the Wet Tropics of North Queensland. *Forest Ecology and Management* 99: 133-152.

# Study of Forest Biodiversity at Mo Singto Forest Dynamics Plot, Khao Yai National Park

**Warren. Y. Brockelman[1], Anuttra Natalang[2], Panarat Charoenchai[2], Chen Nan[2], Thawatchai Santisuk[3], Chumphon Suckaseam[4], George Gale[5] and James F. Maxwell[6]**

[1]Center for Conservation Biology, ISTRD, Mahidol University, Salaya, Phutthamonthon, Nakhon Pathom 73170, [2]BIOTEC, National Science and Technology Development Agency, 73/1 Rajdhevee, Bangkok 10400, [3]Royal Forest Department, Paholyothin Road, Bangkok 10900, [4]National Park Division, Royal Forest Department, Paholyothin Road, Bangkok 10900, [5]Division of Natural Resources Management, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Thungkru, Bangkok 10140, [6]Chiang Mai University Herbarium, Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

**Abstract:** In 1996 a project on plant-animal relations, with particular emphasis on gibbon diet and seed dispersal of trees, was initiated in the Mo Singto area of Khao Yai National Park, an area in which gibbons (Hylobates lar) had been studied since 1979. The major activity in this project has been the establishment of a forest dynamics plot on which all food-producing trees would be identified, counted, and mapped. The establishment of the plot is greatly facilitating the study of gibbon diet and ranging behavior, and is now permitting new studies of the effects of seed dispersal on forest dynamics. The Mo Singto forest dynamics plot has now had a complete inventory of trees ≥ 10 cm in dbh, and the vines (primarily woody climbers) and ground flora are now also being compiled. There are 181 species of trees ≥ 10 cm dbh, in 59 families and 135 genera. The most abundant families are Lauraceae (11.54% of stems), Elaeocarpaceae (6.97% of stems), Aquifoliaceae (6.70% of stems), Meliaceae (6.16% of stems) and Icacinaceae (5.74% of stems). The ground flora includes 116 identified species, and so far 86 species of woody climbers have been identified. The 28.6-ha plot has been mapped with GIS and both trail maps and elevation maps with 5-m contours are being prepared. Studies of seed dispersal in selected tree species, gibbon ranging, dung beetle ecology, and population dynamics of Aquilaria crassna (mai hom tree) have been in progress.

**Key words:** *Hylobates lar*, Khao Yai National Park, forest dynamics, gibbons, seed dispersal

## Introduction

The earliest work relating to the present project at the Mo Singto site began around 1979, when the principal investigator and his colleagues and students began studies of gibbon (*Hylobates lar*) ecology and behavior (Brockelman and Srikosmatara, 1984). Jeremy and Patricia Raemaekers (Raemaekers and Raemaekers, 1984, 1985a, 1985b; Raemaekers et al., 1984) soon developed the area as a gibbon behavioral study site and put in the initial trail network, most of which has been maintained to this day. Several students, both Thai and foreign, have continued gibbon research on the site, but particular mention should be made of Ulrich Reichard (a student of Dr. Volker Sommer, then at the Univ. of Goettingen), who did both his M.Sc. and Ph.D. research on the site and was able to habituate several more groups in addition to the main study group A. The Mo Singto site has become perhaps the most long term and the most active wild gibbon study site in the world. Other Ph.D. projects on gibbon ecology and behavior have been completed by Thad Q. Bartlett, Anouchka Nettelbeck and Nicola Uhde

Although most researchers at Mo Singto have worked on some aspect of social behavior and group dynamics, a few have initiated studies of gibbon diet and foraging (Whitington, 1992; Whitington and Treesucon, 1991; Bartlett, unpublished). These studies have revealed that gibbons appear to be the most important dispersers of the seeds of a larger number of tree and liana species, which has opened up opportunities for much additional research on foraging, seed dispersal, and plant-animal relations in general.

A constant problem in the study of gibbon diet and foraging behavior has been the identification of plants in the study area. Every year new food species are discovered, and because the flora of Khao Yai Park has never been inventoried thoroughly, a large number of species could not be reliably identified. If only the name of each tree were inscribed on its trunk, the study area would become a tremendously useful resource for the study of foraging, plant-animal relations, tree population dynamics, phenology, and many other topics. This is exactly what was being done in tropical forest plots in a few other parts of the world—a complete inventory and mapping of all trees in the forest!

The first large forest dynamics research plot was established on Barro Colorado Island in the Panama Canal Zone in the 1970s, primarily for the study of tree population and community dynamics (eg.

Hubbell, 1979, 1980; Hubbell, et al., 1991; Condit, 1995). The major problem researched was how tree reproduction and recruitment dynamics influence the long term species richness of the forest. During the past 10 years, large, 50-ha, "Forest dynamics plots" (FDP) have been established in all major tropical biomes in the world, and the methodology for establishing large plots is now relatively well standardized (Manokaran et al., 1990; Dallmeier, 1992; Lee et al., 1995; Condit, 1998). A world-wide network of large forest dynamics plots is being coordinated by the Center for Tropical Forest Science (CTFS) of the Smithsonian Tropical Research Institute, Washington, D.C., with collaboration from the Harvard Institute for International Development, University of Georgia (Department of Botany), and several foreign regional coordination centers. The CTFS has published a newsletter (*Inside CTFS*) since 1994 and maintains an e-mail communication network at <elosos@stridc.si.edu> and a website at http://www.si.edu/organiza/centers /stri/forest/ctfs.htm. The Khao Yai FDP has recently joined this network and an article about the Thai network of plots has appeared in the summer 1999 issue of *Inside CTFS*.

Establishment of such a plot in very species-rich, broad-leaved tropical evergreen forest requires full time work in collecting herbarium specimens and the help of the country's most capable plant taxonomists. In 1994, the principal investigator decided that establishment of such a forest plot in the Mo Singto area over the territory of gibbon group A would offer tremendous advantages in the study of foraging, seed dispersal and plant ecology, and so a plot was laid out and survey was initiated. Collaboration was established with The Forest Herbarium of the Royal Forest Department and with the National Park Division. The Khao Yai plot is notable for being the first to be established primarily for the study of wildlife-plant relations (Brockelman, 1998).

## Establishment of Long Term Forest Dynamics Plot

*Survey of Plot and Tree Census*

The survey of the plot was completed in May of 1998. The total size of the plot is now 714 quadrats (each 20×20 m) in an area 500×600 m, for a total of 28.6 hectares. It was desirable to add a couple of rows of quadrats on the east side of the southern edge of the plot, because the range of group A has moved a bit south a bit, and its foraging home range is not entirely covered on the south edge. Each quadrat is marked by an orange plastic stake at each corner, which has its 4-digit column and row number imprinted in its head The measuring, tagging, and mapping of all trees at least 10 cm dbh was completed at the end of 1998. A total of 13,689 trees were tagged, or 518.5 trees per hectare. All tree locations, sizes other special characters (e.g., leaning, prone, broken, irregular bole, buttressed, etc.) have been input to the database. Some of these trees, of course, have started to fall and die off on the plot.

The first census had some problems which would make the determination of tree growth and mortality rates less precise than desired. These were that the census was carried out over a period of 3 years, and that the point of measurement was not marked on each tree. In 2000 it was desired to remeasure all trees on the plot and mark the point of measurement with red paint. This task was finished in July of this year. In addition, new recruits (trees reaching 10 cm dbh after the first census) were included. The total number of trees measured is now more than 15,000.

In the latest census of the Mo Singto plot, only trees ≥10 cm dbh were included. On other FDPs normally all trees ≥1 cm dbh are included as the youngest class of recruits. It is desirable to include the small trees in a later recensus if at all possible. This will depend on whether the TreeXY program works as easily in the field as anticipated, and on the budget and manpower available.

*Plot Database Software*

One of the unique features of the Mo Singto FDP is its database software. The program, called TreeXY, was created anew in Visual FoxPro and Basic for the Mo Singto plot by Mr. Chen Nan of BIOTEC/NSTDA (Chen Nan and Brockelman, in press). Because it was felt that existing software in use on CTFS large plots was too inflexible and obsolescent in many ways. Existing software did not use the features of modern relational databases effectively and did not have very user friendly interfaces. TreeXY has a number of advances over existing databases: (1) It permits mapping of trees by any of four different methods, and does all the necessary calculations of x-y coordinates internally; (2) It permits entry of dbh and mapping data into a small notebook computer in the field, and allows for immediate visual checking of tree locations from a quadrat map shown on the user interface on the screen; (3) It has a superior method of coding of tree species in the files, doing away completely with the 6-digit codes. These features also reduce the amount of data copying and hence the numbers of errors.

During the current phase of the project, some improvements and extensions are developed which will improve TreeXY and make it more universally useful to other plots. One of these is to create files and input options for storing data on woody climbers, both ramets (vines ascending trees) and genets (vines as they leave the ground where they presumably germinated and started to grow). Another desirable development is to have the capacity of multiple user collection and input of data in the forest, preferably be separating the input module from the main database and adapting it for use on a hand-held computer.

*Collection and Inventory of Plants*

All species of trees of trees on the plot have been collected and mounted for storage in the Forest Herbarium at the RFD, a small herbarium in the Institute for Science and Technology for Research and Development, and other herbaria in Thailand. Virtually all specimens have been identified by botanists collaborating with the project. Some species have not yet been identified to species, and a few not yet to genus. Approximately 5 duplicates of each species have been collected. A summary of the specimens follows:

| | |
|---|---|
| number of specimens of reproductive material: | >1,200 |
| number of species identified: | 384 |
| number of tree species identified on plot: | 181 |
| number of woody climbers identified: | 86 |
| number of identified species of ground flora | 116 |

The goal of the inventory is to identify *all* species of flowering plants on the plot, because many life forms besides trees are also important foods for gibbons and other wildlife species. Much work remains to be done with woody climbers, and work on shrubs, ground flora and epiphytes has just started.

The 181 species of trees ≥ 10 cm dbh represent 59 families and 135 genera. The most abundant families are (by percent of total stems): Lauraceae (11.54% of stems), Elaeocarpaceae (6.97%), Aquifoliaceae (6.70%), Meliaceae (6.16%), Icacinaceae (5.74%)

## Gibbon Social Behavior

Work on the demography, social structure, and genetic relations of the gibbons is continuing and with each year, more new and often surprising relevations about gibbon biology emerge. (Brockelman et al., 1998; Reichard, 1995; Reichard and Sommer, 1997; see also Palombit, 1994). The most interesting relevations are that (1) gibbon groups frequently are *not* nuclear families consisting of mated adults and their offspring, (2), development is slower than previously believed, requiring about 12 years to the age of first breeding, (3) natal dispersal distance is usually less than 1 km, suggesting a relatively inbred population, (4) dispersal of maturing young may be delayed, with some subadult males remaining in their natal groups until at least 14 years of age, (5) subadults often find mates by replacing adults in existing groups, (6) extra-pair copulations occur at least occasionally, suggesting that paternity of young by the resident male in the group is less than 100%. These results call for a general reevaluation of our whole understanding of gibbon social structure, based more on neodarwinian evolutionary principles. The observations however, will need to be replicated in time and space to gain wider support. It is also essential to investigate the genetic relations of the individuals in social groups through analysis of DNA obtained noninvasively.

Four groups in the Mo Singto study area are habituated (A, B, C, and R) and several others are partially so (E, H, N). As A is the main group on the plot, and is the one which is used to study diet and seed dispersal its composition is given below. The group consisted of four members in 1998, as follows:

| ID | Sex | Name | Color phase | Age class |
|---|---|---|---|---|
| A0fL | female | Andromeda | light | adult |
| F1mD | male | Fearless | dark | adult |
| A3mD | male | Amadaeus | dark | subadult |
| A5fL | female | Akira | light | juvenile |

In late 1997, the older juvenile Aran had disappeared, and presumably died. The adult female has not given birth since 1993—she is about 5 years overdue. The subadult Amadeus finally dispersed from the group in September of 1999 and mated with Brenda of group B, forming new group T. Eva, the adolescent female of group E, has joined this group. They settled in the western part of group E's territory, where the southern part of the Nature Trail ascends the Mo Singto Ridge.

In late 2000, an exciting change occurred. Christopher, a subadult male in group C, decided to leave his home group and invade the territory of neighboring group A. Fearless, the adult male of group A, tried to drive him out at first, but realizing that he could not do so, soon had to tolerate him. Both the adult female Andromeda and her maturing daughter Akira seem to welcome the new young male, but Fearless just sulked and stayed away from the family most of the time. During early 2001, Christopher became the partner of the much older resident female Andromeda and has been duetting and copulating with her ever since. The most surprising thing is that this invasion has occurred without the new male trying to fight or drive out the old male. Finally, Fearless left the area and joined group T to the south. The composition of group T is not entirely settled and drastic changes are occurring there also.

The changes in these groups bolster our previous findings that gibbon groups are not as stable as previously thought, and are not always nuclear family groups. Competition for mates is strong in the dense population which occurs in the Mo Singto area, but behavioral relations appear to be quite flexible.

## Diet and Foraging of Gibbons

*Diet*

A complete inventory of the plant species consumed by gibbons, and the characterization of all fruit species consumed in terms of structure, size and shape, color, position in the canopy, etc. has been completed by Ms. Chuti-On Kanwuttanakid, a M.Sc. student at Mahidol University. Gibbons have been seen to consume a total of 61 species of plants, representing 30 plant families.

The species list lacks a number of species listed by Whitington and Treesucon (1990), as the period of observation lasted only about 1 year. The majority of species were recorded as seeds in the feces of the gibbons, and a seed collection has been made.

The frequency of different plant life forms in the diet has been analyzed. Trees supply the bulk of food at 72% of species consumed, but woody climbers and creepers supply a substantial 26%. These are almost certainly underestimated because the approximately 10 unidentified types of seeds found in feces are likely to be mostly climbers, which are difficult to identify and see in the canopy.

An analysis of external color of the fruit was carried out. Gibbons showed no strong preference for any particular color, although the most common color was yellow (37%), followed by dark blue/purple (28%) and then orange and red (13% each). Most of the yellow fruits were species of figs, but some highly prized non-fig fruits were also yellow (e.g., *Sandoricum, Alphonsea, Aphananthe*). A number of other yellow or yellowish green fruits (*Choerospondias, Prunus, Diospyros*) typically fell of the tree at the peak of ripeness and were consumed by deer and wild pigs in addition to arboreal frugivores. None of these fruits have covers that need to be removed before consumption. Virtually all succulent fruits in the forest are consumed by gibbons; therefore it cannot be determined if they select fruits of some colors over others.

Gibbons are not highly selective when it comes to size class, either, as they consume fruits of all available sizes. Eight fruit species (18%) are larger than 40 cm in length; all of these are pealed and consumed piece by piece instead of being pealed and swallowed whole.

How can the gibbons' preferred fruits be characterized? While most fruits are succulent, there are 10 species consumed that have rather dry pulp, mostly figs. Fig moisture content varies somewhat with species and with season, sometimes being quite high. The hardness of gibbon foods also varies considerably. Ten species of fruits eaten have such hard covers that a person cannot easily open them with a knife. These are easily opened by the sharp, dagger-like canine teeth of gibbons.

Fig species are consumed in all months of the year. Two other species (*Gnetum*, mostly *montanum* and *Balakata baccatum*) were consumed in 6 months of the year. Ten species were found in only a single month. The number of non-fig species consumed per month ranged from one (June, *Nephelium melliferum*) to 11 or 12 (August–October). Woody climbers tended to be more available from August to January than during other times of the year.

Overall, fruit species made up 77% of the diet, leaf species 20%, and other plant parts about 8%. Only 3 species provided more than one type of food. About 69% of the fruits consumed were swallowed whole, and 25.5% were consumed by swallowing the flesh and seed after removing the rind or external cover. Only one species was consumed by chewing on the flesh but not swallowing the seed. This remarkable finding shows the great potential of gibbons as seed dispersal agents.

*Nutritional Characteristics*

A total of 6 species of fruits and 1 species of leaves consumed by gibbons have been sent for analysis of nutritional qualilties, including energy content, moisture content, protein, fat, carbohydrate, dietary fiber, ash, and vitamin C. Most succulent fruits have a very high moisture content, and could be used as a source of water. They are all moderately high in energy content. The *Ficus* analyzed had a very low water content, but was relatively high in energy, protein and carbohydrate. The leaves of *Polyalthia viridis* had a relatively high protein content and were moderately high in usable carbohydrate.

## Gibbon Ranging and Seed Dispersal

*Dispersal of Nephelium melliferum*

Pimpanas Vimuktayon, a M.Sc. student in biology at Mahidol University, carried out a study of the dispersal and germination of seeds of the wild rambutan on the plot. The aim of this study was to determine the "seed shadow" of rambutan seeds as dispersed by gibbons, which are the only animals that regularly swallow and defecate large quantities of seeds. During April and May of 1997, the researcher followed group A and marked and mapped the locations of 1,785 seeds in 336 stools. These were individually staked for monitoring of seedling survival over the next year. In December 1997, 30 seedlings (1.7% of seeds dropped) were still alive. The researcher intended to carry out more germination tests during the 1998 fruiting season, but unfortunately the rambutan trees completely failed to fruit this year.

*Seed Dispersal in the Forest Tree Choerospondias axillaris*

This study was begun in July, 1987, by Pranom Kunsakorn and was finished in Sept. 1998. Both arboreal and terrestrial animals consume fruits and seeds of this common forest tree over a period of many months during May–November. Most ripe yellow fruits fall to the ground and are consumed by sambar deer and regurgitated at their bedding sites in piles. Late in the season, however, when fruiting tree species are generally scarce, gibbons rely heavily on these fruits still hanging on the tree. The aim of the project was to determine the period of fruit-fall, and to determine the pattern of distribution of the seeds as affected by both gibbons and deer. In May of 1998 there was a large new green crop of fruits on the trees, and many of them were attacked by variable squirrels which are seed predators. The fruits were dropped after being neatly circumcised to remove the seeds.

*Gibbon Ranging Behavior*

Ranida Touranont, a visiting student in biology from Harvard University, studied tree use by the gibbon Group A, and found that they used trees of all size classes above 10 cm dbh, but for all activities trees above 35 cm dbh were used about half of the time, even though only about 12 percent of trees on the plot were above this size. Large trees were clearly preferred by gibbons.

Ranida was able to obtain an estimate of dispersal distance for seeds of a particularly rare tree, *Aphananthe cuspidata* (Ulmaceae). Only one individual of this species was in fruit during August–October, 1999, during the study. A total of 16 fecal stools containing seeds of *Aphananthe* were found, at an average distance of 194 m from the parent tree. Maximum distance was 420 m.

## Other Projects Carried Out on the Plot

One of the most important benefits from the establishment of the biodiversity research and monitoring plot is the opportunities it provides for student training and research projects. Since its inception in about 1980, the Mo Singto site has hosted research on gibbon behavior leading to at least 10 postgraduate degrees, and the biodiversity plot has permitted research on animal-plant relations leading to at least three postgraduate degrees and two senior theses. This year, at least three new graduate research projects have been initiated.

The Mo Singto plot is available for use by other researchers from any university whose projects have the approval of the Royal Forest Department. Prospective researches must submit a request to the principal investigator (Brockelman) and coordinate their activities with other researchers currently using the plot. If needed, such researchers can be given a map of the whole plot and quadrat maps which show the locations of all trees on the plot, with their dbh and identity. A species list for the plot may be given if this is needed. Quadrat maps and species lists are now completed and can be obtained from the Center for Conservation Biology, ISTRD, Salaya Campus.

Several research projects and other activities were carried out on the plot during the project period, or are planned to begin soon. A list of these is as follows:

1. The role of subadults in gibbon groups (*Hylobates lar*), by Udomlux Suwanvecho, for M.Sc. degree in Biology; completed in 1997.
2. Study of gibbon breeding structure and paternity, by Dr. Ulrich Reichard, M.P.I. for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany, begun in 1999. Dr. Reichard is observing group structure and collecting fecal samples for analysis of DNA using PCR, to determine genetic relations and paternity within and between groups.
3. Mating behavior and social structure within groups of gibbons on and around the plot, by Nicola Uhde, doctoral student, University of Goettingen, Germany. Started in 1999.
4. Effect of cover by the forest herb *Strobilanthes sp.* (Acanthaceae), on growth and survival of seedlings, a senior project by Supanee Hirunkanokpun and Kannaporn Ruenpanich, completed in 1998.
5. Ecology and distribution of lichens on tree trunks, by Chanpen Wongsriphuak for senior projects; completed in 1999.
6. Harvest and population structure of the aromatic wood tree *Aquilaria crassna* (Thymelaeaceae), by Christie Young, School of Forestry and Environmental Studies, Yale University, New Haven, CT, U.S.A., completed in 1999.
7. Effects of white-handed gibbon (*Hylobates lar*) on habitat, spatial distribution and seed dispersal of trees, by Ranida Touranont, Biology Extension Studies Program, Harvard University, MA, USA., completed in 1999 (described above).
8. Ecology of woody climbers on the Mo Singto plot, by Kanok Lertpanich, begun as a Ph.D. project.
9. Population dynamics of the "mai hom" tree *Aquilaria crassna*, by Zhang Lixin, just begun as a Ph.D. project.
10. Seed dispersal and natural secondary succession of forest near the Mo Singto plot, by undergraduates Chalita Kongrit and Yingluck Ratanapongsai, and by M.Sc. student Supreeda Tangprasertsiri.

## Conclusions

Initially, the Mo Singto area was primarily used for studying white-handed gibbons, and research on their population dynamics and social behavior is still progressing. We are beginning to understand how social behavior affects birth and death rates, and how these may regulate the population, which has remained remarkably stable over a period of at least 20 years. Long term study of groups of individuals that are individually known has led to many new insights about mating behavior, dispersal, and group dynamics.

The study of feeding ecology and ranging behavior has also progressed, but not not as fast as it should have, partly due to shortage of personnel. We have a reasonably good picture of the diet of gibbons, and some knowledge (most of it unpublished) about how and where they find feeding sites. It is clear that the gibbons have detailed knowledge of the locations of their preferred, high quality foods. These are also the fruit types that appear to be dispersed by gibbons, as part of what we interpret as fruiting tree – frugivore seed dispersal mutualisms. There is much more research to be carried out in this area, to determine the gibbons' unique role in the regeneration of the suite of tree and woody climber species that they are the prime consumers and dispersers of.

The mapping of every tree, and the planned mapping of all woody climbers, will permit an unprecedented analysis of how the frugivore – plant mutualisms and other interactions influence the regeneration of plants and the maintenance of plant species diversity. For this to be realized fully, however, trees must be censussed down to the sapling stages (to 1 cm dbh). This is being done for selected species and in selected areas at present, but a community-wide analysis will require all species to be included. The mapping of terrain features using GIS technology will also be important to analyze the ecological and spatial patterns of recruitment and how they are influenced by animal-aided dispersal. This is now being initiated by our team.

The long term goal of this project is to accumulate the diverse types of knowledge that will allow us to understand how gibbons and plants survive as components of the forest ecosystem and how they affect the survival of each other. This is an ambitious goal that requires long term team research on aspects that have traditionally been studied in quite different disciplines that did not interact. We have made the assumption that nothing important in the forest can be thoroughly

understood without understanding almost everything else.

During the last few years the most time consuming and difficult part of establishing a permanent study site is identifying all the trees and vines present. The preparation and identification of voucher specimens has taken longer than expected and work will continue until every species is adequately collected. Several important tree and vine families have not been treated in the *Flora of Thailand* and there are many uncertain identifications, and many new records to find.

## Acknowledgments

This project is being supported by Biodiversity Research and Training Program (BRT) grant BRT 239001. Support has also been received from a senior researcher' s award from the National Science and Technology Development Agency, and by the Institute for Science and Technology for Research and Development, Mahidol University. It is being carried out with collaboration from the National Park Division, Royal Forest Department. We are grateful to Mr. Pairat Tarnchai, former Chief of Khao Yai National Park, and Mr. Prayuth Lawsuwansiri, Mr. Chorpat Pongrung, former Chiefs of the Training and Research Division, Mr. Sanya Soralum current Chief, and Mr. Amnuay Intarak, head of the Training and Research Center of Khao Yai Park, Royal Forest Department, for all their support. The following persons have recently shared their gibbon observations with us: Ulrich Reichard, Nicola Uhde, Pimpanas Vimuktayon, Pranom Kunsakorn, Janya Jadejaroen, and Udomlux Suwanavecho. We thank the following persons for their field assistance on the plot: Atsadang Bhudhipap, Saiwaroon Chongkho, Amnart Boonkongchart, Somsak Pumpoung, Mark Read, Viboonsak Sairat, Direk Songserm, Vudhikorn Kumcharoen, Anuparp Yhamdee, and also in the beginning, Ulrich Reichard, Nicola Uhde, Udomlux Suwanvecho and Nalinee Phisutiphorn; and we thank also Achaya Leksuntorn, Wararat Kusiriwanichkorn, Oraya Sutibutr, and Chalarmsri Kalumtakaphan for their dedicated administrative support.

## References

Brockelman, W. Y. 1998. Long term ecological research plot for the study of animal diets in Khao Yai National Park. Pages 307-310 *In* P. Poonswad (ed.), *The Asian Hornbills: Ecology and Conservation. Thai Studies in Biodiversity*, No. 2.

Brockelman, W. Y., U. Reichard, U. Treesucon and J. J. Raemaekers. 1998. Dispersal, pair formation and social structure in gibbons (*Hylobates lar*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 42: 329–339.

Brockelman, W. Y. and S. Srikosamatara. 1984. Maintenance and evolution of social structure in gibbons. Pages 298-323 *In* H. Preuchoft, D. J. Chivers, W.Y. Brockelman and N. Creel (eds.), *The Lesser Apes: Evolutionary and Behavioural Biology*. Edinburgh University Press, Edinburgh.

Chen Nan and W. Y. Brockelman. TreeXY: New, User-friendly Software for Large Forest Plot Data Collection. (in review for symposium volume: "Forest diversity and dynamism: results from the global network of large-scale demographic plots").

Condit, R. 1995. Research in large, long-term tropical forest plots. Trends Ecol. Evol. 10: 18–22.

Condit, R. 1998. Tropical Forest Census Plots: Methods and Results from Barro Colorado Island, Panama and a Comparison with Other Plots. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Dallmeier, F., editor. 1992. Long-term Monitoring of Biological Diversity in Tropical Forest Areas: Methods for Establishment and Inventory of Permanent Plots. MAB Digest 11, UNESCO, Paris.

Hubbell, S. P. 1979. Tree dispersion, abundance, and diversity in a tropical dry forest. *Science* 203: 1299–1309.

Hubbell, S. P. 1980 Seed predation and coexistance of tree species in tropical forests. *Oikos* 35: 214–229.

Hubbell, S.P., R. Condit and R. B. Foster. 1991. Presence and absence of density-dependence in a neotropical tree community. Proc. Roy. Soc. London B 330: 269–281.

Lee, H. S., P. S. Ashton and K. Ogino, editors. 1995. Reports of A New Program for Promotion of Basic Sciences Studies of Global Environment Change with Special Reference to Asia and Pacific Region, Vol. II-3: Long Term Ecological Research of Tropical Rain Forest in Sarawak. Ehime University, Matsuyama.

Manokaran, N., J.V. LaFrankie, K.M. Kochummen, E.S. Quah, J.E. Klahn,. P.S. Ashton and S.P. Hubbell. 1990. Methodology for the Fifty Hectare Research Plot at Pasoh Forest Reserve. Forest Research Institute Malaysia, Research Pamphlet No.104, Kepong, Malaysia.

Palombit, R. 1994. Dynamic pair bonds in hylobatids: implications regarding monogamous social systems. *Behaviour* 128: 65-101.

Raemaekers, J. J. and P. M. Raemaekers. 1984. Vocal interactions between two male gibbons, *Hylobates lar*. *Natural History Bulletin of the Siam Society* 32: 95–106.

Raemaekers, J. J. and P. M. Raemaekers. 1985a. Field playback of loud calls to gibbons (*Hylobates lar*): territorial, sex-specific and species-specific responses. *Animal Behaviour* 53: 481–493.

Raemaekers, J. J. and P. M. Raemaekers. 1985b. Long-range vocal interactions between groups of gibbons (*Hylobates lar*). *Behaviour* 95: 26–44.

Raemaekers, J. J., P. M. Raemaekers and E. H. Haimoff. 1984. Loud calls of the gibbon (*Hylobates lar*): repertoire, organization and context. *Behaviour* 91: 146–189.

Reichard, U. 1995. Extra-pair copulations in a monogamous gibbon (*Hylobates lar*). *Ethology* 100: 99–112.

Reichard, U. and V. Sommer. 1997. Group encounters in wild gibbons (*Hylobates lar*): Agonism, affiliation, and the concept of infanticide. *Behaviour* 34: 1135–1174.

Whitington, C. L. 1992. Interactions between lar gibbons and pig-tailed macaques at fruit sources. *American Journal of Primatology* 26: 61–64.

Whitington, C. L. and U. Treesucon. 1991. Selection ond treatment of food plants by white-handed gibbons (*Hylobates lar*) in Khao Yai National Park, Thailand. *Natural History Bulletin of the Siam Society* 39: 111–12.

# Effects of Human Landuse on Faunal Abundance in Some Thai Forest Reserves

**Antony J. Lynam[1], Alan Rabinowitz[2] and Warren Y. Brockelman[3]**

[1]Wildlife Conservation Society-Thailand Program, P.O. Box 170, Laksi, Bangkok 10210

[2]Wildlife Conservation Society, International Programs, 2300 Southern Boulevard, Bronx, NY 10460 USA

[3]Centre for Conservation Biology, Mahidol University, Salaya Campus, Buddamonthon, Nakhon Pathom 73170

**Abstract**: Habitat fragmentation involves the reduction and isolation of natural areas, and is a serious threat to wildlife. An important objective for wildlife managers is to identify species that are sensitive to fragmentation and the specific ecological consequences of fragmentation to which each species is sensitive. Large mammals are targeted by poachers and are among the first wildlife to disappear from forests following fragmentation. In this study, the distributions of large mammals and the composition of mammal assemblages were compared across forest conditions ranging from small fragments to extensive transboundary areas. Interview surveys of rangers and local people were used to determine where large mammals were concentrated inside reserves. Systematic camera-trapping and sign surveys were done in these areas for carnivores, ungulates and other large mammals. Encounter rates of signs and capture rates from camera-traps showed that large mammal composition and abundance varied between sites. Transboundary rainforests on the Thai-Malaysia border had the most abundant populations of focal species (elephants, wild cattle and tigers), the highest traffic of large mammals, and were species rich for ungulates. Forests that are narrow and internally fragmented by roads have the poorest large mammal faunas and lowest traffic mammal traffic. Geographic Information System (GIS) databases were used to map distributions of large mammals within two study areas, and assess how different species are affected by human disturbances in the landscape. At rainforest sites, carnivore abundance was influenced by factors such as proximity to roads, drainages, and levels of prey. Large ungulates (sambar and gaur) distributions were highly predictable inside another large reserve, suggesting close affinities with habitats, including saltlicks and grasslands managed by annual burning. Bear and elephant distributions were less predictable and possibly more influenced by the patterns of hunting inside the reserve. In general, poaching inside Thai reserves and the internal fragmentation of reserves by roads that facilitates access to poachers, are arguably the most serious threats to large mammals, especially those with commercial value either alive or dead. The research was conducted in collaboration with Royal Forest Department staff, students and local people. Field methods developed during the project were taught to these individuals through on-the-job training and special training courses.

**Key words**: habitat fragments, large mammals, forest complex, protected area

## Introduction

Habitat fragmentation is the process by which natural areas are reduced in size and isolated into what is termed habitat fragments or remnants. This process can have significant effects on wildlife diversity and ecosystem function (Laurance et al., 1997; Robinson et al., 1992; Lynam and Billick, 1999). In a perfect world, planned landscape development would preserve wildlife populations, ecosystems and ecological processes in their natural states. In reality, habitat fragmentation driven by human disturbance often results in critical wildlife habitats and hotspots of biodiversity being altered or destroyed.

During the 20th century Thailand's forest cover decreased from 70% to less than 30% (Arbhabhirama et al., 1988). Concomitant with this loss was the transformation of large tracts of forest to smaller isolates surrounded by human-modified lands. For example, in southern Thailand, all remaining forests exist as isolates, mostly <100 square kilometres in size (Brockelman and Baimai, 1993). Habitat remnants of this size are unable to support intact communities of wildlife species. Of particular concern are large birds and mammals that have large area requirements (Poonswad, 1993; Woodroffe and Ginsberg, 1998), are of economic importance, or are indicators of ecological conditions, flagship species, and species that have restricted distributions or are vulnerable or endangered (Brockelman and Baimai, 1993). The internal fragmentation of forests by road and powerline construction further breaks up wildlife habitat (Goosem, 1997) and can lead to reductions and loss of species, especially by increasing access to hunters (Auzel and Wilkie, 1999). The effects of habitat fragmentation on individual species may be varied (Lynam, 1997) and not easily predictable (Lynam, 1995).

Currently, efforts to manage biodiversity in Thailand focus on forest complexes. This has stemmed from the realization that conservation in protected areas should be more effective if they are

managed as whole ecosystem complexes. Nineteen protected area complexes-seventeen comprising terrestrial areas, and two marine complexes - are recognized for Thailand (Prayurasiddhi et al., 1999). The terrestrial complexes range in size from 1,448 to 18,730 square kilometres with a mean and standard error of 5,364 ± 1,063 square kilometres. These remnant habitats will in future become the target of conservation and management activities.

## Project Objectives

1. To document the status and distribution of ground-dwelling large mammals in selected forest remnants that represent the range of landscape settings in Thailand. Large mammals (> 1kg in body weight) are considered to be highly sensitive to habitat fragmentation and susceptible to hunting, by virtue of their physiological and demographic characteristics, and are therefore at greatest risk of extinction in habitat remnants;
2. To provide training for Thailand Royal Forest Department staff in techniques of survey and assessment of large mammals;
3. To determine how environmental variation, as measured by habitat structure, forest condition, size of forest remnants, and other variables, influences mammal abundance inside these forests;
4. To archive information on mammal status and distributions, and their habitats in GIS databases for use in wildlife management activities;
5. To determine the status and distribution of Indochinese tigers (*Panther tigris corbetti*) and prey species in forest remnants;
6. To assess the extent to which the occurrence of tigers is predicted by environmental characteristics of forest remnants, including fragment size, shape, levels of human disturbance and prey abundance;
7. To assess the utility of tigers as indicators of intact mammal communities;
8. To prioritize forest areas in terms of their future potential for supporting large mammal communities, including Indochinese tigers.

## Study Areas

The six areas selected for study are shown in Fig. 1:

1. Queen Sirikit Reserve Forest (now Bang Lang National Park), Yala Province;
2. Halabala Wildlife Sanctuary, Narathiwat Province;
3. Phu Khieo Wildlife Sanctuary, Chaiyaphum Province;
4. Khao Yai National Park, Nakhon Ratchasima Province;
5. Thap Lan National Park, Prachinburi Province; and
6. Taphyra National Park, Sakaew Province.

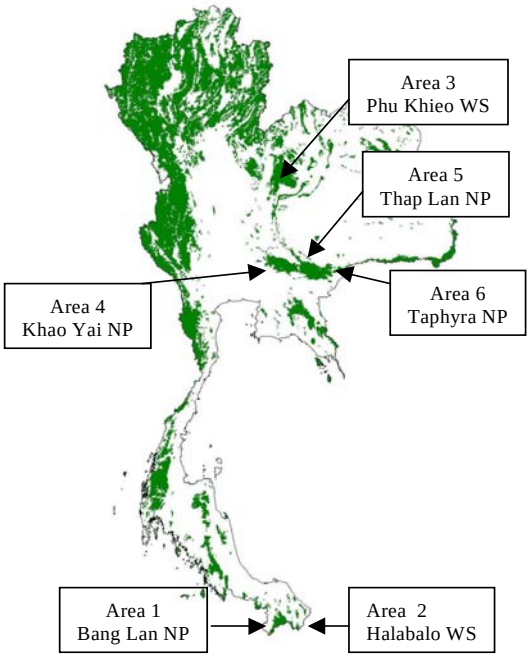


Figure 1. Location of large mammal study sites.

## Methods

Field surveys for large mammals were made at two different spatial scales: (1) comparisons of the distributions and abundances of large mammals between 6 forest complexes (Areas 1-6), and (2) assessment of the distributions of large mammals within forest complexes (Areas 1 and 4). Field methods were developed for these investigations during 1996 and 1997. While direct census methods are available for use in open habitats, this study developed survey methods for use in closed habitats that typify the conditions experienced by large mammals in

most forests in Indochina and Indoburma. An underlying goal of this research was to produce standardized survey methods that could be applied by trained field staff.

*Interview surveys and other background information* Indirect evidence for focal species was gained by reviewing published literature, species lists, and reports. Royal Forest Department staff and local people were asked questions about the occurrence of large mammals. Information was classified according to its reliability; direct observations were coded high reliability, observations of track and sign were coded medium reliability, and third hand reports from other sources were treated as low reliability. Areas where interviews suggested the occurrence of intact ecological mammal communities, i.e., presence of carnivores and prey species, were targeted for direct field survey. Two techniques were used for the direct survey of large mammals; sign detection methods and automated camera-traps.

*Sign surveys* Tracks, scat, scrapes, scratches, rubbings or other sign of large mammals can indicate the presence of large mammals along wildlife trails and places where wildlife aggregate for example salt licks, waterholes and caves (Wilson et al., 1996). The reliability of this method depends upon the skill of the observer in resolving mammal signs, and the conditions of weather, substrate and the age of sign deposited. In general, because of the variation in detectability of signs at a site, usually only species presence can be confirmed. In some cases encounter rates of signs of some large mammals can be used as an index of their abundance.

*Camera-trapping* Camera-traps have been available since the early 1900's (Chapman, 1927) but only recently have they been seriously employed for wildlife inventory and ecological investigation (Cutler and Swann, 1999). Camera-traps have been used to detect everything from rodent predators of bird nests (Laurance and Grant, 1994) to rhinos (Griffiths and van Schaik, 1993) and for estimating densities of large carnivores (Karanth, 1995). Camera-traps may take a variety of shapes and forms. In their simplest construction, they are devices triggered by pressure-plates set on trails, or baits tied to the end of a string. The most recent development in the field is infrared-based camera traps (Fig. 2). These are self-contained units that run off alkaline or lithium cells. Two broad types are those which use active or passive infrared monitors. Active infrared requires an animal to pass through a beam transmitted between a sender and a receiver unit. Passive infrared involves a single sensor unit that detects a differential between ambient conditions and the body heat and motion of animals passing in front of the sensor. In this study, surveys for large mammals were done using commercially available passive infrared devices (Camtrakker ™, Camtrak South Inc. Georgia, USA; Fig. 2). At each study area, camera-traps were either arranged in large plots or along animal trails to detect large mammals. ANOVA and logistic regression, along with Geographic Information System (GIS) databases were used to analyse mammal data and construct predictive models of mammal distributions.

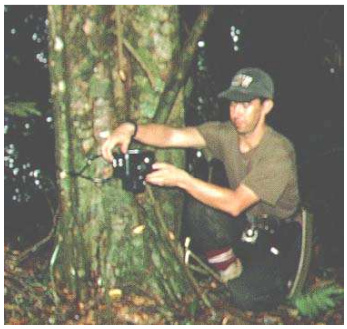


Figure 2. Setting a camera-trap for detecting large mammals.

## Results

### *Comparisons of mammal assemblages*

- Species richness of mammals at camera-trap locations varied significantly among sites (ANOVA: $F=2.28$, $p<0.05$). Species richness from camera-trapping in study plots ranged from 9 species at Thap Lan to 19 species at Phu Khieo.
- Levels of wildlife traffic at individual camera-traps varied among sites but not significantly so (ANOVA: $F=0.88$, $P>0.05$. Levels of mammal traffic varied though not significantly so among sites (ANOVA: $F=1.98$, $p=0.07$).
- The abundance of focal large species – elephant, tiger and gaur – was highest at a rainforest site in southern Thailand (Hala), and lowest at a dry forest site in eastern Thailand (Taphyra) (Fig. 3).
- The composition of wildlife traffic as recorded by camera-traps varied between sites (Fig. 4). Carnivores accounted for over 30% of wildlife traffic recorded at two sites–Khao Yai (Khlong E-Tow) and Taphrya-and less than 20% at two sites–Bala and Phu Khieo. Ungulates represented more than 60% of traffic at two sites (Bala and Phu Khieo) and less than 20% at one site (Thap Lan). Primates represented > 25% of fauna recorded at Thap Lan.

- The composition of carnivores varied among sites. Southern rainforest sites supported only cats and bears while other sites supported lower percentages of cats and up to 3 other groups of carnivores. Dhole (*Cuon alpinus*) was found at three sites-Khao Yai, Taphyra and Phu Khieo. Civets and mongoose were recorded at all sites except the southern sites. Overall, most carnivores recorded by camera-traps were felids.
- Ungulate assemblages ranged from two species at Thap Lan to seven species at Hala. Red muntjac, elephant and wild boar were almost ubiquitous, each occurring at six of seven sites. Tapir were found only at two rainforest sites-Hala and Bala.
- Two large mammals–the Malayan porcupine and pig-tailed macaque-as well as pheasants were ubiquitous across all study sites.
- Camera-traps recorded the presence and activity of human visitors at forest sites. Two sites-Bala and Taphrya sites had the highest levels of villager traffic. Bala villagers were most often phototrapped with long-tailed macaques. The macaques are trained for climbing "luuk niang" trees. Some photos recorded poachers carrying shotguns. Taphyra villager traffic included individuals and groups of individuals carrying ricesacks, rattan, and weapons into and out of the forest, on foot and on motorcycles. Human traffic at Phu Khieo was mostly of tourists and vehicles. Human traffic at Hala was entirely of indigenous tribal Sakai or Jahai people. Some photos recorded these people in the process of hunting with blowpipes and spears

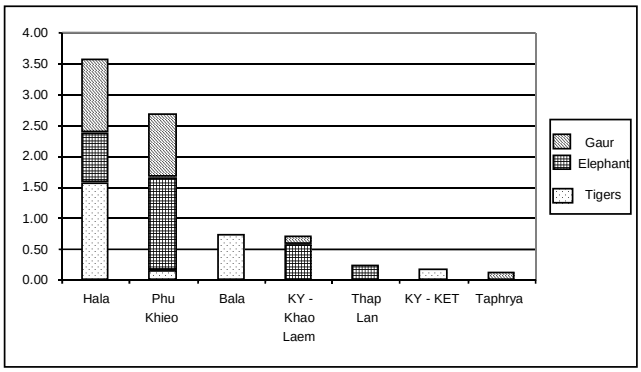



Figure 3. Abundance of focal large mammal species across study sites. (y-axis is average no.captures/100 camera- trap nights/trap)

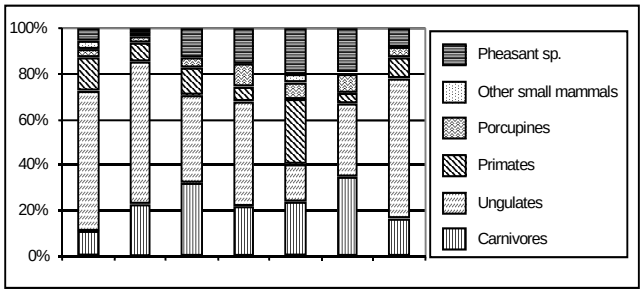



Figure 4. Composition of wildlife traffic from camera-trapping.

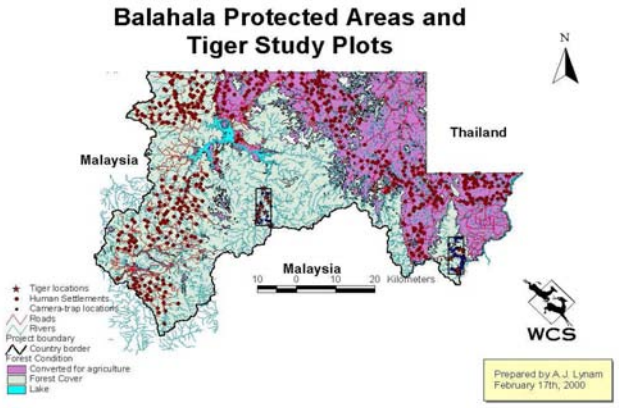



Figure 5. Study plots used for surveys of tigers and other large mammals in the Balahala Forest Complex (taken from GIS database).

***Mammal Distributions within Forest Complexes***

*Balahala Forest Complex*-a GIS database was used to determine the relationship between carnivore abundance and environmental or landscape parameters in the Balahala Forest Complex (Fig. 5). For example, tigers tended to be found close to water, far from roads and in areas with high traffic of prey species. These results suggest that to conserve tigers reserve managers should try to preserve natural drainages, reduce road construction and reduce poaching.

*Khao Yai National Park* – Mammals species richness tended to be greatest at the center of the park near park headquarters. Mammal abundance varied between the survey sites. Capture rates of mammals near the park headquarters (Mo Sing To) were nearly four times those of areas in the parks extreme south (Prachantakham) and nearly 15 times those in the extreme east (Wan Luang).

Camera-traps recorded the activity patterns of wildlife and humans. Mammal activity occurred throughout the day and night but was lowest between 11.00-17.00 hrs (Fig. 6). Poachers were active mostly during the day but also during evening hours when they spotlighted wildlife for hunting with guns. Poachers use all areas of the park, including areas close to park headquarters. Poacher activity is heavy towards the east of the park, from the Sai Yai River south to the Prachantakham substation, and between the Sai Yai and Klongpa Gung substations. Poacher traffic was inversely related to ranger traffic (Fig. 7). In places where ranger patrols are infrequent, poacher traffic was high. Where patrols were frequent, poachers ventured only seldomly in the forest.

Mammal abundance was related to poacher numbers (Fig. 8). Prachantakham has the lowest mammal capture rate and one of the highest poacher capture rates. Likewise in the Sai Yai area, which has the highest poacher capture rate and a relatively low mammal capture rate. In the extreme southeast of the park (Wan Luang area), capture rates of poachers and their dogs, and capture rates of wildlife were similar.

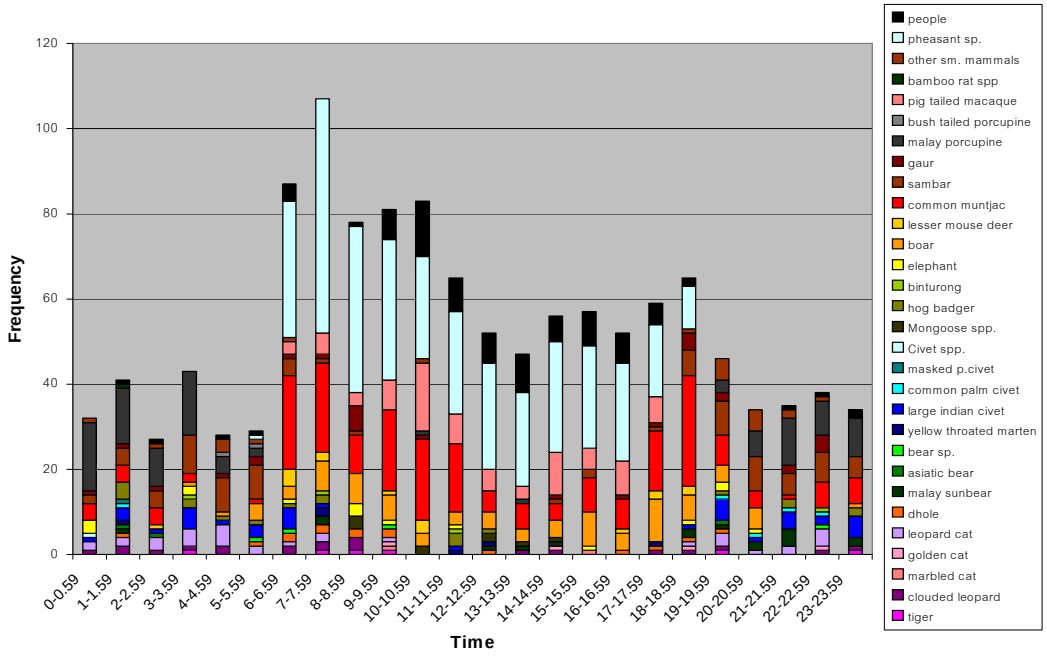



Figure 6. Activity budgets for mammals in Khao Yai NP, from camera trap data.

Information on large mammals recorded via camera-trapping during January 1999 – August 2000 was compared with models of species distribution generated from track and sign surveys in 1995/6. For example, the observed distributions of both sambar and gaur from camera-trapping were correlated with predicted distributions ($R = 0.87$ and 0.86, respectively, both $p<0.05$) (Trisurat and Lynam manuscript). This suggests that the distributions of these ungulates may be relatively stable and are possibly influenced by habitat features such as saltlicks and vegetation, factors that do not vary much between seasons or years. Annual burning of grasslands near the headquarters area maintains food resources for sambar. The distribution of a male tiger was centred around the area where grasslands are managed in the park, and sambar are concentrated (Fig. 9). Ungulates should be relatively easy to protect and patrols should be directed to the areas where these species are concentrated.

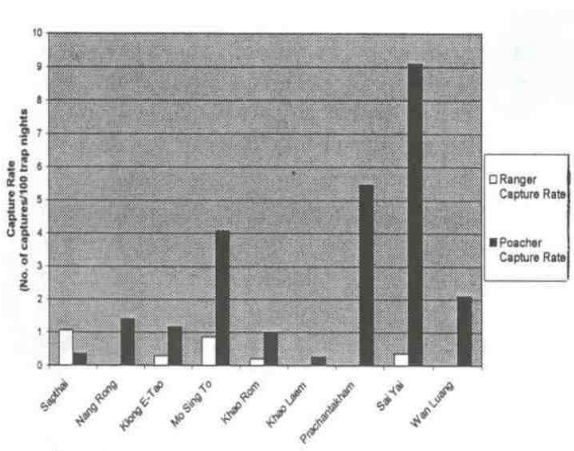



Figure 7. Comparison of poacher and ranger presence at 8 study areas of Khao Yai NP from camera-trap survey.

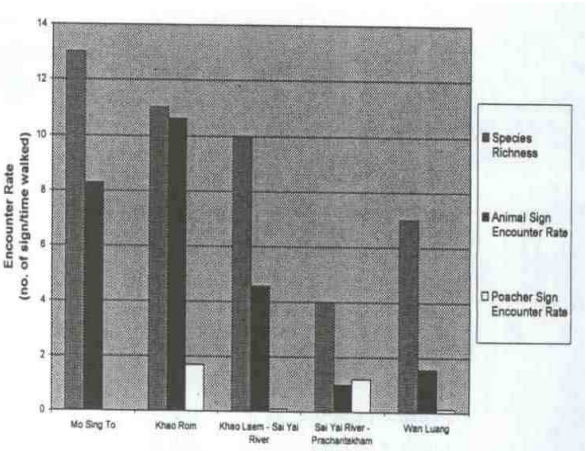



Figure 8. Comparison of poacher and wildlife presence in 5 areas of Khao Yai NP, from sign survey data.

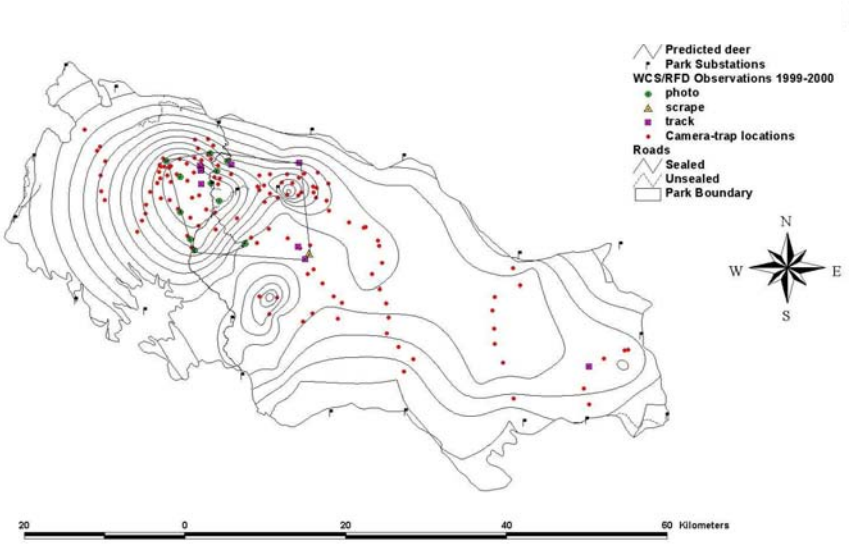



Figure 9. Tiger observations and predicted sambar distribution.

## Conclusions

Habitat loss and fragmentation have caused the reduction and loss of wildlife populations in tropical forests (Laurance and Bierregaard, 1997), including Thailand (Lynam, 1995; Lynam, 1996; Lynam, 1997; Rabinowitz, 1993). The most intact Thai mammal faunas now persist only in the largest, most intact forest tracts, especially transboundary forest areas (Lynam, 1999a, b; Wikramanayake et al. 1998). However, poaching has reduced populations of large mammals in Thai reserves (Dobias, 1987; Griffin, 1994; Lynam et al. in press; Smith et al., 1999; Srikosamatara and Suteethorn, 1995), and elsewhere in the region (Karanth and Stith, 1999; Madhusudan and Karanth, 2000), and some species may be close to local extinction in reserves e.g. tigers in Khao Yai (WCS/RFD, 2000), or regional extinction across all reserves e.g. Sumatran rhino in Borneo (Rabinowitz, 1995). Consequently, it is appropriate to address these problems by targetting reserves for site-specific conservation actions designed to counter these effects (Galster and Eliot, 1999), and by expanding research programs to improve the understanding of wildlife responses to fragmentation and hunting.

***Recommendations for Follow-up Action***

- *Future research needs to address the question of sustainability of hunting in Thai reserves*. Comparisons of rates of harvest of wildlife with the productivity of forests can address this question (Robinson and Redford, 1994) and hunting studies of the type undertaken in Africa and other parts of Asia (Robinson and Bennett, 1999) should be encouraged and implemented.
- *Results of wildlife inventories and research should be applied towards practical wildlife management in protected areas*. This will be most effective if researchers collaborate with government institutions concerned with management. The current project has had some success in this area. In 1998, the Royal Forest Department invited the author to participate in the development of a management plan for the Upper Eastern Forest Complex, which contains Khao Yai, Thap Lan, Taphrya National Parks and Dong Yai Wildlife Sanctuary. Information gained from the BRT funded surveys in the former two areas, and additional survey efforts in the complex involving bird surveys are currently being compiled in a report for the RFD (Lynam and Round, in preparation). The RFD will be encouraged to use this report towards developing a comprehensive management plan for the forest complex. Special training for policy level staff in methods for compiling, analysing and incorporating wildlife data may need to be done to ensure appropriate use of the information.
- *Some Thai forest reserves or parts of them cannot support viable large mammal populations*. Most existing large forest tracts have already been incorporated in the protected area system (Prayurasiddhi et al., 1999). Additional areas proposed for incorporation in the future are either small or isolated (or both) parcels that add no significant value to the system for large fauna. To staff these new areas, the current trend is to transfer forestry staff from existing large areas into the small areas thus diluting the effective protection for wildlife across the system. The allocation of budgets, personnel and other resources towards protected areas should be strongly related to the degree of importance of an area for wildlife. For example, areas that are less than 100 $km^2$ in size hold no long-term value for the largest mammals (Brockelman and Baimai, 1993). Areas that have lost connections to adjacent forest tracts may need habitat restoration, and labor forces to undertake this, in order to regain these vital connections. Future research should examine the degree to which large mammals use habitat that link reserves, e.g., riverine forest, as movement corridors.
- *Thai reserves lack buffer zones so that wildlife populations are in contact with human-forest edges but the effects of these interfaces on wildlife are poorly understood*. Large mammals may go rapidly extinct in small reserves and those where there are no established buffer areas, where wildlife encounter humans frequently. The effects of reserve edges and road edges on wildlife need to be addressed with further research. This has begun at Khao Ang Ru Nai Wildlife Sanctuary (Wanghongsa, 2000) but needs to be done elsewhere, especially in smaller reserves.
- *Survey efforts required to detect presence of endangered species*. The study contributed information concerning the survey efforts required to detect one endangered carnivore, the tiger. Information from 4 Thai forests was combined with data from 15 other areas across Asia (Carbone et al., 2001). Where tigers occur at low density, survey efforts with camera-traps need to be at least 1,000 trapnights in order to record their presence.
- *Field research methods should be translated to protected area staff via training programs.* Wildlife researchers have a responsibility to train and develop the capacity of policy makers, protected area managers, and young potential conservationists in techniques for documenting and conserving wildlife, especially those they have developed while working in protected areas. Regular training courses should be conducted by researchers with the support of conservation agencies. The Thai government should be promoting these kinds of endeavours and actively seeking support, collaborations, and funding for them.
- *High school and university curricula need to include conservation science modules.* In the future, landscape development, especially that which potentially affects wildlife, will by

law need to be based on environmentally sound practices and there will be a demand for the services of trained, highly skilled environmental professionals. Colleges and universities that are ahead of the game will already be producing these kinds of graduates.

- *Improved protection is needed to save dwindling populations of endangered species.* Protected area management in Thailand currently focusses on attracting tourists and generating income from gate sales, food, accommodation and amusements. The value of wildlife is ignored in the process. Without the protection afforded to wildlife by park rangers, there will be no wildlife for the next generation to see. Special training in techniques of antipoaching, patrolling and outreach should be a part of standard ranger training course in protected areas in the future.
- *Site based wildlife protection programs should be implemented in areas deemed important for the long-term preservation of large mammals.* A new conservation initiative - The Khao Yai Conservation Project - was implemented in March 2000 (Spencer, 2000) partly as a result of the findings of the study reported here, assessments of park needs and a survey of attitudes towards natural resource conservation in local communities surrounding the park (WCS/GSN, 1999). Khao Yai National Park was chosen for special attention because it is Thailand's oldest National Park, because it is familiar to Thai and foreign visitors, and because the problems there typify the kinds of problems facing wildlife in other areas. It also supports populations of elephant, tigers, wild cattle, hornbills, gibbons and other endangered fauna. These populations are potentially self-sustaining with appropriate management intervention. The objectives of the three-year project are to reduce poaching of wildlife at Khao Yai. This will be done by mobilizing park staff in two directions. Firstly, a Wildlife Protection Team consisting of 30 park rangers, and trained by professional wildlife protection professionals and Royal Border Patrol Police, will patrol the park and enforce wildlife laws. A separate 10 member strong Outreach Team will work towards changing attitudes of local people to nature conservation, including schoolchildren, and finding alternative forms of employment for forest poachers.

  Monitoring of species sensitive to hunting – ungulates, primates, large rodents and birds - will be conducted at places in the park that were identified by this study as high, medium, and low human use sites (WCS/RFD, 2000). Teams of researchers, trained rangers and ex-poachers will monitor these areas to detect trends in abundance of sensitive species as the management changes introduced with the project are implemented. Hunting of wild meat is widespread in tropical forests (Robinson and Bodmer, 1999) but is rarely sustainable (Robinson and Bennett, 1999). Monitoring of local wildlife markets and interviews with hunters will be attempted to establish the rates of consumption of wildlife from Khao Yai. Information from line transect surveys in the park will be used to estimate standing biomass of hunted species in the park, and to determine whether hunting is sustainable, or moreover, the degree to which consumption exceeds forest productivity.

The wildlife protection program if successful may become a model for protected area management that might be replicated in other places in Thailand, and elsewhere in the region. The BRT program, through a grant from BIOTEC, is financially supporting the ecological monitoring program associated with the Khao Yai Conservation Project.

**Acknowledgements**

This work was supported by the TRF/BIOTEC Special Program for Biodiversity Research and Training grant BRT 239002. The project was designed and implemented by Dr Antony Lynam. Dr Warren Brockelman and Dr Alan Rabinowitz provided guidance and advice throughout the term of the research. The Wildlife Conservation Society (WCS) supported the researcher's salary and provided office space, and other logistical and financial support. The National Fish and Wildlife Foundation/"Save The Tiger Fund", Australian Embassy and John and Surindar Morgan provided additional funding support for aspects of the project in Khao Yai National Park.

The Royal Forest Department (RFD) and National Research Council of Thailand (NRCT) provided permissions for the field research, and supported visa applications for the researcher while in Thailand. Dr Viroj Pimmanrajnagool supported the project and assisted with coordination through the RFD's Bangkok office. Vilai Vasoontraluk and Ohnuma Tiprailuk coordinated the project with RFD

and administered the project from start to finish. RFD staff in the protected areas provided personnel to assist with the field work and undertake training. Police Major Pitak Iadgaew and staff of Border Patrol Police Unit 445 (Betong) provided supported for the field team at Balahala, and the transboundary survey, and were a constant source of encouragement and inspiration. Suwat Kaewsirisuk, Kitti Kreetiyutanont, Tewin Meesap, Pornchai Visutacharn and their rangers provided logistical support in the field. Participants in a tiger survey techniques and conservation training workshop assisted with the collection of some of the camera-trap data at Khao Yai, National Park. Dr Chumpol Suckaseam permitted the mammal inventories to take place at Khao Yai, and agreed to participate in the development of the larger conservation program that arose from the research. He provided staff to participate in its coordination and implementation.

## References

Auzel, P. and D.S. Wilkie. 1999. Wildlife use in northern Congo. *In* J.G. Robinson and E.L. Bennett (eds.), Hunting for sustainability in tropical forests. Columbia University Press, New York.

Arbhabhirama, A., J. Elkington, P. Ingkasuwan, and D. Phantumvanit. 1988. Thailand Natural Resources Profile. Oxford University Press. Oxford, UK. 431 pp.

Brockelman, W.Y. and V. Baimai. 1993. Conservation of biodiversity and protected area management in Thailand: World Bank/GEF/Pre-investment Study.

Carbone, C., S. Christie, K. Comforti, T. Coulson, N. Franklin, J. Ginsberg, M. Griffiths, J. Holden, K. Kawanishi, M. Kinnaird, R. Laidlaw, A. Lynam, D. Martyr, C. McDougal, L. Nath, T. O'Brien, J. Seidensticker, J.L.D. Smith, M. Sunquist, R. Tilson and W.N. Wan Shahruddin. 2001. The use of photographic rates to estimate densities of tigers and other cryptic mammals. *Animal Conservation* 4: 75-79.

Chapman, F.M. 1927. Who Treads Our Trails. National Geographic, September, 1927, 331-345.

Cutler, T.L. and D.E. Swann. 1999. Using remote photography in wildlife ecology: a review. *Wildlife Society Bulletin* 27, no. 3: 571-581.

Dobias, R.J. 1987. Elephants in Thailand: an overview of their status and conservation. *Tigerpaper* 14, no. 1: 19-24.

Galster, S.R. and K.V. Eliot. 1999. Roaring back: anti-poaching strategies for the Russian Far East and the comeback of the Amur tiger. *In* J. Seidensticker, S. Christie and P. Jackson (eds.), Riding the Tiger: Tiger conservation in human dominated landscapes. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 230-242.

Goosem, M. 1997. Internal fragmentation: the effects of roads, highways, and powerline clearings on movements and mortality of rainforest vertebrates. *In* W.F. Laurance, Jr. R.O. Bierregaard and C. Moritz (eds.), Chapter 16 in Tropical Forest Remnants: Ecology, Management and Conservation of Fragmented Communities. University of Chicago Press, Chicago, USA. 241-255.

Griffin, J.G. 1994. An evaluation of protected area management: a case study of Khao Yai National Park. *Tigerpaper* 21, no. 1: 15-23.

Griffiths, M. and C.P. van Schaik. 1993. Camera-trapping: a new tool for the study of elusive rain forest animals. *Tropical Biodiversity* 1, no. 2: 131-135.

Karanth, K. U. 1995. Estimating tiger *Panthera tigris* populations from camera-trap data using capture-recapture models. *Biological Conservation* 71 no. 3: 333-338.

Karanth, K.U. and B.M. Stith. 1999. Importance of prey depletion in driving the Tiger's decline. *In* J. Seidensticker, S. Christie, and P.Jackson (eds.) Riding the Tiger: Tiger conservation in human dominated landscapes. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Laurance, W.F. and J.D. Grant. 1994. Photographic identification of ground-nest predators in Australian tropical rainforest. *Wildlife Research*, no. 21: 241-248.

Laurance, W.F. and R.O. Bierregaard. 1997. Tropical Forest Remnants: Ecology, Management, and Conservation of Fragmented Communities. University of Chicago Press, Chicago.

Laurance, W.F., Jr. R. O. Bierregaard, C. Gascon, R. K. Didham, A. P. Smith, A. J. Lynam, V. M. Viana, T. E. Lovejoy, K. Sieving, Jr. J. W. Sites, M. Andersen, M. Tocher, E. Kramer, C. Restrepo, and C. Moritz. 1997. Tropical Forest Fragmentation: Synthesis of a diverse and dynamic discipline. *In* W.F. Laurance, Jr. R.O. Bierregaard and C. Moritz (eds.), Chapter 32 in Tropical Forest Remnants: Ecology, Management and Conservation of Fragmented Communities. University of Chicago Press, Chicago.

Lynam, A.J. 1995. Effects of habitat fragmentation on the distributional patterns of small mammals in a tropical forest in Thailand. Ph.D. Thesis, University of California, San Diego.

Lynam, A.J. 1996. Distributions of large fauna with respect to the edge of a Thailand protected area. New York: Wildlife Conservation Society. Environment, Resurces and Development, Asian Institute of Technology.

Lynam, A.J. 1997. Rapid decline of small mammal diversity in monsoon evergreen forest fragments in Thailand. *In* W.F. Laurance, Jr. R.O. Bierregaard and C. Moritz (eds.), Chapter 15 in Tropical Forest Remnants: Ecology, Management and Conservation of Fragmented Communities. University of Chicago Press, Chicago.

Lynam, A.J. 1999a. Sumatran rhinoceros - Ghost of the Rainforest. Sarakadee.

Lynam, A.J. 1999b. Transboundary expedition on Thai-Malaysia border reveals elephant and Sumatran rhinoceros populations threatened by poaching. *Natural History Bulletin of the Siam Society* 47: 23-35.

Lynam, A.J. and I. Billick. 1999. Differential responses of small mammals to fragmentation in a Thailand tropical forest. *Biological Conservation* 91: 191-200.
Lynam, A.J., K. Kreetiyutanont, and R. Mather. In press. Conservation status and distribution of the Indochinese tiger (*Panthera tigris corbetti*) and other large mammals in a forest complex in northeastern Thailand. *Natural History Bulletin of the Siam Society*
Madhusudan, M.D. and K.U. Karanth. 2000. Hunting for an answer: is local hunting compativle with large mammal conservation in India? *In* J.G. Robinson and E.L. Bennett (eds.), Hunting for sustainability in tropical forests. New York: Columbia University Press, New York, 339-355.
Poonsawad, P. 1993. Comparative ecology of sympatric hornbills (Bucerotidae) in Thailand. Ph.D. Osaka City University.
Prayurasiddhi, T., S. Chaiwatana and S. Naporn, eds. 1999. Forest Complexes in Thailand. Bangkok: Royal Forest Department, Prueksirin Printing.
Rabinowitz, A. 1993. Estimating the Indochinese tiger, *Panthera tigris corbetti*, population of Thailand. *Biological Conservation*. 65, no. 3: 213-217.
Rabinowitz, A. 1995. Helping a species go extinct: the Sumatran rhino in Borneo. *Conservation Biology* 9: 482.
Robinson, G.R., R.D. Holt, M.S. Gaines, S.P. Hamburg, M.L. Johnson, H.S. Fitch, and E.A. Martinko. 1992. Diverse and contrasting effects of habitat fragmentation. *Science* 257: 524-526.
Robinson, J.G. and R.E. Bodmer. 1999. Towards wildlife management in tropical forests. *J. Wildl. Manage*. 63, no. 1: 1-13.
Robinson, J.G. and K.H. Redford. 1994. Measuring the sustainability of hunting in tropical forests. *Oryx* 28: 249-256.
Robinson, J.G. and E.L. Bennett. 1999. Hunting for sustainability in tropical forests. New York, New York: Columbia University Press.
Smith, J.L.D., S.Tunikhorn, S.Tanhan, S. Simcharoen, B. Kanchanasaka. 1999. Mapping the metapopulation structure of Thailand's tigers. *In* J. Seidensticker, S. Christie and P. Jackson (eds.), Riding the Tiger: Tiger conservation in human dominated landscapes. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
Spencer, M. 2000. Protecting the Pristine. *Sawasdee* 44-47.
Srikosamatara, S. and V. Suteethorn. 1995. Population of gaur and banteng and their management in Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 43: 55-83.
Trisurat, Y. and A.J. Lynam. manuscript. Predicting the distributions of threatened large fauna for management action at Khao Yai National Park, Thailand.
Van Schaik, C.P. and M. Griffiths. 1996. Activity periods of Indonesian rain forest mammals. *Biotropica* 28, no. 1: 105-112.
Wikramanayake, E., E. Dinerstein, J.G. Robinson, K.U. Karanth, A. Rabinowitz, D. Olson, T. Mathew, P. Hedao, M. Conner, G. Hemley, D. Bolze. 1998. An ecology-based method for defining priorities for large mammal conservation: the tiger as case study. *Conservation Biology* 12, no. 4: 865-878.
Woodroffe, R. and J. R. Ginsberg. 1998. Edge effects and the extinction of populations inside protected areas. Science (Washington D C) 280, no. 5372: 2126-2128.
Wilson, D.E., F. R. Cole, J.D. Nichols, R. Rudran, M.S. Foster. 1996. Measuring and monitoring biological diversity; standard methods for mammals. Washington D.C. USA: Smithsonian Institution Press.
Wanghonsa, S. 2000. The effects of roads on wildlife mortality at Khao Ang Ru Nai Wildlife Sanctuary, Thailand. Wildlife Seminar 2000, Royal Forest Department 22-26th December, 2000
WCS/GSN. 1999. How to reduce poaching of aloewood and wildlife in Khao Yai National Park. Wildlife Conservation Society/Global Survival Network. Bangkok. 12 pp.
WCS/RFD. 2000. Status and distribution of threatened large fauna at Khao Yai National Park, Thailand. Wildlife Conservation Society - Thailand Program. Bangkok. 24.

# การท่องเที่ยวเชิงนิเวศ

**ยศ สันตสมบัติ**

ศูนย์ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน คณะสังคมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง เชียงใหม่ 50202

## Abstract: Ecotorism

This research project is part of a larger "Ecotourism Project" initiated by Mae Hong Son Province and BRT. The scope and purpose of this project are to examine the local knowledge and resource management systems of various ethnic groups in Mae Hong Son, the impact of tourism and cultural adaptation of these ethnic groups and to find ways and means to strengthen community organizations. It is hoped that research findings will be fruitful for policy planning on ecotourism with special emphasis on active participation of the local community in the sustainable management of ecotour programs and the natural environment. This paper contends that the context of tourism in Northern Thailand is closely related with the problem of underdevelopment and marginalization of various ethnic groups who have been the victims of exploitation by the tourism industry. The basic problem of ecotourism development is closely related to the issues of local empowerment, the strengthening of local organization in the management of natural resources, the reproduction of conservation ethics and the pride in cultural roots, the initiation of learning processes especially in terms of tourism management and the equitable distribution of income and benefits among all stakeholders. In this context, ecotourism as a development concept has a great deal of potential in providing motives for sustainable use and management of natural resources.

**Key words**: ecotourism, biodiversity, cultural diversity, resource management

## บทนำ

จังหวัดแม่ฮ่องสอนเป็นดินแดนที่สวยงามตามธรรมชาติ มีผืนป่าที่คงสภาพค่อนข้างสมบูรณ์ อุดมด้วยความหลากหลายของระบบนิเวศ พันธุ์พืช ไม้ป่า กล้วยไม้ เฟิร์น และสิ่งมีชีวิตประจำถิ่นนานาชนิด เป็นแหล่งรวมน้ำตก และถ้ำสวยงาม กลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ที่หลากหลายทางวัฒนธรรม วิถีชีวิต ขนบธรรมเนียมประเพณี และการแต่งกาย เหมาะแก่การท่องเที่ยวในลักษณะการเดินป่าและพักผ่อน จำนวนนักท่องเที่ยวมีทั้งชาวไทยและต่างประเทศ และมีเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 1) จนสัดส่วนระหว่างประชากรของจังหวัดกับจำนวนนักท่องเที่ยวส่งผลกระทบต่อวิถีชีวิต ความเป็นอยู่ ค่าครองชีพ ปัญหามลภาวะ และสภาพแวดล้อมมากขึ้น

ตารางที่ 1. เปรียบเทียบจำนวนนักท่องเที่ยว และรายได้ที่ได้รับจากการท่องเที่ยวของประเทศไทย

| ปี พ.ศ. | ทั้งประเทศ | | เชียงใหม่ | | แม่ฮ่องสอน | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | จำนวนนักท่องเที่ยว (คน) | รายได้ (ล้านบาท) | จำนวนนักท่องเที่ยว (คน) | รายได้ (ล้านบาท) | จำนวนนักท่องเที่ยว (คน) | รายได้ (ล้านบาท) |
| 2537 | 6,166,496 | 145,211 | 2,375,968 | 17,380 | 171,165 | 593.57 |
| 2538 | 6,951,566 | 190,765 | 2,670,357 | 16,040 | 178,896 | 568.88 |
| 2539 | 7,192,145 | 219,364 | 3,042,117 | 21,006.29 | 199,770 | 679.96 |
| 2540 | 7,221,345 | 220,755 | 3,052,118 | 21,388.37 | 214,990 | 813.06 |

การศึกษาวิจัยผลกระทบจากการส่งเสริมการท่องเที่ยวต่อสภาพแวดล้อมธรรมชาติ และคุณภาพชีวิตของประชาชน ทำให้จังหวัดแม่ฮ่องสอนร่วมกับโครงการพัฒนาความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) จัดทำโครงการวางแผนเพื่อพัฒนาการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ (Ecotourism) ของจังหวัดขึ้น โดยในส่วนย่อยของโครงการนี้ เป็นการวิจัยว่าชุมชนท้องถิ่นหรือกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ที่มีหลากหลายในจังหวัดแม่ฮ่องสอน มีระบบและภูมิปัญญาท้องถิ่นในการจัดการทรัพยากรอย่างไร การท่องเที่ยวมีผลกระทบต่อการปรับตัวทางวัฒนธรรมและศักยภาพของชุมชนในการจัดการทรัพยากรอย่างไร จะเสริมสร้างความเข้มแข็งขององค์กรชุมชน และระบบการจัดการ

ทรัพยากรเพื่อรองรับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศได้อย่างไร ผลของโครงการจะนำไปสู่การวางแผนการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ โดยที่ชุมชนท้องถิ่นมีบทบาทสำคัญในการวางแผน การบริหารจัดการ และจัดสรรผลประโยชน์จากท่องเที่ยว เพื่อให้เกิดการพัฒนาในลักษณะที่เป็นธรรม และใช้ประโยชน์จากสภาพแวดล้อมธรรมชาติอย่างยั่งยืน

การท่องเที่ยวได้รับขนานนามว่าเป็นอุตสาหกรรมที่มีขนาดใหญ่ที่สุดของโลก เป็นช่องทางในการสร้างรายได้และหมุนเวียนเงินตราระหว่างประเทศ มีความสำคัญต่อการขยายตัวทางเศรษฐกิจของประเทศกำลังพัฒนาเป็นอย่างยิ่ง (Hall, 1994) ขณะเดียวกันเริ่มเป็นที่ยอมรับกันว่าการท่องเที่ยวเป็นปัจจัยสำคัญที่สร้างผลกระทบทางสังคมวัฒนธรรมและสภาพแวดล้อม โคลิน ฮอล (Hall, 1994) นักวิชาการออสเตรเลียผู้เชี่ยวชาญปัญหาการท่องเที่ยว เสนอว่านโยบายและแผนการท่องเที่ยวมักถูกกำหนดโดยรัฐบาลหรือหน่วยงานของรัฐ ซึ่งตอบสนองต่อความคิดเห็นและความต้องการของกลุ่มผลประโยชน์ แต่ไม่เคยสนใจกับปัญหา ผลกระทบ และความต้องการของชุมชนท้องถิ่น อุตสาหกรรมการท่องเที่ยวจึงมิได้มีนัยสำคัญต่อการพัฒนาท้องถิ่นดังที่มักถูกนำมาเป็นประเด็นอวดอ้าง (Pleumarom, 1994) หากแต่เป็นเพียงการดึงดูดให้ชุมชนท้องถิ่นเข้าเป็นส่วนหนึ่งของระบบ

การบุกเบิกธุรกิจทัวร์ป่า เพื่อชักนำนักท่องเที่ยวให้ชื่นชมกับความงามของผืนป่า พันธุ์ไม้ ถ้ำ นก สรรพสัตว์ และกลุ่มชนที่มีวิถีชีวิต การแต่งกาย และวัฒนธรรมประเพณีที่หาชมได้ยาก ซึ่งเป็นจุดขายของการท่องเที่ยวในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแม่ฮ่องสอน ทำให้ทัวร์ป่าเป็นธุรกิจที่ได้รับการสนับสนุนจากหน่วยงานของรัฐทั้งจากส่วนกลาง และระดับท้องถิ่น แต่งานวิจัยหลายชิ้น (ปุสตี, 2535; ประเสริฐ และ อิฐศักดิ์, 2534) แสดงให้เห็นว่า รายได้ของทัวร์ป่า ไม่ได้กระจายผลประโยชน์อย่างทั่วถึง ส่วนใหญ่ตกอยู่กับผู้ประกอบการ ในขณะที่ชาวบ้านท้องถิ่น ได้รับค่าตอบแทนเฉลี่ยคนละ 20-30 บาทต่อวันเท่านั้น แต่ต้องรับผลกระทบทางเศรษฐกิจ ซึ่งส่งผลให้สินค้าเครื่องอุปโภคบริโภคและอาหารมีราคาแพงขึ้น

งานทางวิชาการที่ศึกษาผลกระทบของทัวร์ป่าในเขตภาคเหนือของไทย เช่น Durst (1987), Judd (1988), Mirante (1991) และ Dearden (1993) ต่างได้วิจารณ์บทบาทของทัวร์ป่าที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของวัฒนธรรมประเพณีท้องถิ่นอย่างรุนแรง งานวิจัยบางชิ้น เช่น Dearden (1993) ให้ความสำคัญกับบทบาทของทัวร์ป่าต่อการกระจายผลประโยชน์ทางเศรษฐกิจในชุมชน แต่ประเด็นที่ได้รับความสนใจค่อนข้างน้อยหรือแทบไม่มีเลย คือ บทบาทและการมีส่วนร่วมของชุมชนท้องถิ่นต่อการวางแผนและการจัดการท่องเที่ยว ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่ามีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม เศรษฐกิจ และสังคมของชุมชนท้องถิ่นมากที่สุด ปัญหาดังกล่าวทำให้งานศึกษาวิจัยในช่วงหลังเริ่มให้ความสำคัญกับการท่องเที่ยวจากมุมมองของชุมชนเป็นสำคัญ McIntosh and Goeldner (1986) เสนอให้วางแผนและจัดการการท่องเที่ยวโดยมีชุมชนเป็นจุดศูนย์กลาง (Community-oriented tourism) ในการควบคุมจัดการ และจัดสรรผลประโยชน์ Murphy (1985) เน้นการใช้มุมมองเชิงนิเวศในการวางแผนการท่องเที่ยว โดยให้ความสำคัญกับอำนาจของชุมชนเช่นกัน

ความแตกต่างระหว่างการท่องเที่ยวจากแง่มุมของรัฐและภาคธุรกิจเอกชน กับการท่องเที่ยวจากแง่มุมของชุมชนอยู่ตรงที่ว่า มุมมองด้านแรกเป็นแบบการสั่งการจากบนลงล่าง เน้นความพึงพอใจของนักท่องเที่ยว และเม็ดเงินจากรายได้เป็นสำคัญ ในขณะที่มุมมองแบบหลังเน้นการวางแผนจากเบื้องล่างสู่บน โดยเน้นตอบสนองความพึงพอใจทั้งนักท่องเที่ยวและชุมชนท้องถิ่น อีกทั้งยังให้ความสำคัญกับกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนท้องถิ่น ทั้งในระดับการวางแผน การบริหารจัดการ และการแบ่งปันผลประโยชน์อย่างยุติธรรม นักวิชาการบางท่านเสนอว่า ชุมชนเป็นแหล่งท่องเที่ยวสำคัญสำหรับนักเดินทาง ดังนั้น ชุมชนจึงต้องมีบทบาทสำคัญในการจัดการ และการพัฒนาการท่องเที่ยวเพื่อให้กิจกรรมต่าง ๆ มีส่วนตอบสนองความต้องการของชุมชนอย่างแท้จริง (Blank, 1989)

การมีส่วนร่วมของชุมชนท้องถิ่นในการจัดการท่องเที่ยว และสภาพแวดล้อมธรรมชาติ ทำให้แนวคิดเรื่อง “การท่องเที่ยวเชิงนิเวศ” (Ecotourism) เริ่มเป็นที่สนใจอย่างจริงจัง ยิ่งไปกว่านั้นในรอบทศวรรษที่ผ่านมา การท่องเที่ยวเชิงนิเวศได้กลายมาเป็นธุรกิจที่เจริญเติบโตรวดเร็วที่สุดในแวดวงของอุตสาหกรรมการท่องเที่ยว การสัมมนาระดับนานาชาติเรื่อง “การท่องเที่ยวเชิงนิเวศเพื่อการอนุรักษ์ป่าและการพัฒนาชุมชน” ที่จังหวัดเชียงใหม่ เมื่อเดือนมกราคม 2540 การท่องเที่ยวเชิงนิเวศได้รับนิยามว่า “การท่องเที่ยวไปยังแหล่งธรรมชาติโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเรียนรู้ทำความเข้าใจกับ

พัฒนาการทางวัฒนธรรม และสภาพแวดล้อม ด้วยความระมัดระวังไม่ให้เกิดความเสียหายต่อระบบนิเวศ และในขณะเดียวกันก็ช่วยสร้างโอกาสทางเศรษฐกิจ เพื่อให้ชาวบ้านในท้องถิ่นได้รับประโยชน์โดยตรงจากการอนุรักษ์ธรรมชาติแวดล้อม" (Bornemeier et al., 1997) Gail Nash (1997) นักวิจัยจากสมาคมการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ (The Ecotourism Society) เสนอหลักพื้นฐาน 7 ประการของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศไว้ดังนี้คือ 1) ต้องหลีกเลี่ยงการสร้างผลกระทบทางด้านลบที่จะก่อให้เกิดความเสียหายหรือการทำลายสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ และวัฒนธรรมของพื้นที่ท่องเที่ยว 2) ต้องให้นักท่องเที่ยวตระหนักถึงความสำคัญของการอนุรักษ์ธรรมชาติแวดล้อมและวัฒนธรรม 3) รายได้จะต้องนำไปสู่การอนุรักษ์ธรรมชาติแวดล้อม และการจัดการเขตอนุรักษ์ 4) ชุมชนท้องถิ่นรวมทั้งชุมชนใกล้เคียงจะต้องเป็นผู้ได้รับผลประโยชน์โดยตรง 5) ต้องเน้นความสำคัญของการวางแผน และการเติบโตของการท่องเที่ยวอย่างยั่งยืน โดยจำนวนนักท่องเที่ยวต้องอยู่ในขอบเขตของศักยภาพการรองรับ (Carrying capacity) ตามธรรมชาติของระบบนิเวศท้องถิ่น 6) รายได้ส่วนใหญ่จะต้องตกอยู่กับประเทศผู้เป็นเจ้าของแหล่งท่องเที่ยว ด้วยเหตุนี้จึงเน้นการใช้ผลิตภัณฑ์ และบริการของท้องถิ่นเป็นสำคัญ และ 7) ต้องให้ความสำคัญกับการใช้ทรัพยากร ลด/ละการใช้น้ำมันเชื้อเพลิง อนุรักษ์พันธุ์พืชพื้นบ้าน และจัดการท่องเที่ยวให้สอดคล้องกับธรรมชาติแวดล้อมอย่างแท้จริง

นอกจากนี้ การท่องเที่ยวเชิงนิเวศยังเน้นความสำคัญของการผสมผสานจุดมุ่งหมายของการอนุรักษ์ธรรมชาติแวดล้อม และการพัฒนาชุมชนไว้เป็นเรื่องเดียวกัน (Lindberg et al., 1995) อีกทั้งให้ความสำคัญกับมิติของการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ และการพัฒนาอย่างยั่งยืน (Cater, 1997; McCool, 1994) อย่างไรก็ตาม Pleumarom (1997) ได้ตั้งคำถามเกี่ยวกับแนวคิด นโยบาย และวิถีปฏิบัติของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศว่าจะช่วยให้เกิดการอนุรักษ์ธรรมชาติแวดล้อมและการพัฒนาได้จริงหรือไม่ โดยเสนอว่าการท่องเที่ยวเชิงนิเวศไม่ควรมีรูปแบบหรือนโยบายที่มีมาตรฐานเดียว หากแต่ควรเป็นส่วนหนึ่งของทางเลือกในการพัฒนา และก่อให้เกิดกระบวนการเรียนรู้อย่างแท้จริง คณะวิจัยของโครงการศึกษาการท่องเที่ยวเชิงนิเวศกับการปรับตัวทางวัฒนธรรม และศักยภาพในการจัดการทรัพยากรชุมชนของกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ในจังหวัดแม่ฮ่องสอน เห็นว่าการประเมินศักยภาพขององค์กรชุมชนจะต้องพิจารณาอย่างเป็นองค์รวม ครอบคลุมถึงเงื่อนไขและการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงความสัมพันธ์ต่างๆ ระหว่างชุมชนกับสภาพแวดล้อมธรรมชาติ และชุมชนกับสังคมภายนอกอย่างรอบด้าน และเป็นพลวัต ด้วยเหตุนี้เองกรอบคิดในการศึกษาวิจัยการท่องเที่ยวเชิงนิเวศจึงประกอบไปด้วยแนวคิดหลัก 5 ประการดังนี้

1. การมองการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในบริบทของการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเศรษฐกิจ การเมือง และสภาพแวดล้อมธรรมชาติ เป็นแนวคิดที่ช่วยให้สามารถเชื่อมโยงปรากฏการณ์ในท้องถิ่นกับเงื่อนไขภายนอก และชี้ให้เห็นทิศทางของการพัฒนาประเทศที่มีผลต่อวิถีชีวิตของชุมชนท้องถิ่นอย่างชัดเจน การที่ภาคเอกชนเข้ามาผูกขาดธุรกิจท่องเที่ยวซึ่งเน้นการสร้างรายได้ และความเจริญเติบโตของธุรกิจแต่เพียงอย่างเดียว อาจทำให้ภาคธุรกิจอุตสาหกรรมการท่องเที่ยวได้ประโยชน์ แต่ขณะเดียวกันก็มีผลในด้านของการทำลายวัฒนธรรมท้องถิ่น ก่อให้เกิดความเสื่อมโทรมของสภาพแวดล้อมธรรมชาติและความยากจน เพราะชุมชนท้องถิ่นขาดอำนาจในการจัดการ และไม่สามารถพัฒนาศักยภาพการพึ่งตนเองได้ การพิจารณาการท่องเที่ยวในบริบทของการพัฒนาที่เน้นทิศทางเดียว คือ การเจริญเติบโตขยายตัวทางเศรษฐกิจนั้น ช่วยให้เข้าใจปัญหาความสัมพันธ์ระหว่างชุมชนท้องถิ่นกับสังคมภายนอกได้อย่างชัดเจน

2. การมองการท่องเที่ยวเชิงนิเวศจากมิติของความสัมพันธ์ระหว่างมนุษย์กับธรรมชาติ เพื่อให้ชุมชนท้องถิ่นใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืนและเป็นธรรม โดยเน้นรักษาสภาพความอุดมสมบูรณ์ของผืนป่า น้ำ ปลา นก และสัตว์ป่าไว้ให้นักท่องเที่ยวได้ชื่นชม และชุมชนได้ประโยชน์จากกิจกรรมการท่องเที่ยว

3. การมองการท่องเที่ยวเชิงนิเวศจากมิติทางวัฒนธรรม เป็นการให้ความเคารพแก่อัตลักษณ์ และความหลากหลายทางวัฒนธรรมของกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ซึ่งมีวิถีชีวิตและจารีตประเพณีแตกต่างกันออกไป มุมมองนี้เน้นการให้ความเคารพแก่ศักดิ์ศรี และสิทธิในความเป็นมนุษย์ของกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ

4. การมองการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในฐานะเป็นขบวนการทางสังคม หรือความพยายามของชุมชนในการปรับตัวภายในบริบท และสภาวะการณ์ที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างต่อเนื่อง เพื่อสร้างดุลยภาพระหว่างการผลิตในภาคเกษตร

การประกอบอาชีพของชาวบ้านกับระบบนิเวศ ตลอดจนการสร้างสรรค์ความเป็นธรรมภายในสังคม และการรวมตัวกันเพื่อต่อสู้กับการเอารัดเอาเปรียบจากบริษัทนำเที่ยว

5. การมองการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในบริบทของการพัฒนาชนบท และการอนุรักษ์ฟื้นฟูธรรมชาติแวดล้อมอย่างยั่งยืน เพื่อกำหนดทิศทางการพัฒนาตนเอง บนพื้นฐานของวัฒนธรรมและจารีตประเพณีอันหลากหลายของชุมชนและกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ เป็นแนวคิดที่ให้นำรายได้จากการท่องเที่ยวมาใช้พัฒนาชุมชนในรูปแบบต่างๆ เช่นการสร้างกองทุนชุมชน การพัฒนาอาชีพ และฝีมือแรงงานในการประดิษฐ์หัตถกรรมพื้นบ้าน การพลิกฟื้นกระบวนการเรียนรู้ของชุมชนในแง่การจัดการทรัพยากรพันธุกรรม การอนุรักษ์ และพัฒนาสายพันธุ์พืชพื้นบ้าน การเชื่อมต่อภูมิปัญญาท้องถิ่นกับวิทยาศาสตร์สมัยใหม่ เป็นต้น

ภายใต้กรอบความคิดดังกล่าวข้างต้น เราจึงอาจนิยาม การท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ว่าเป็นการรวมตัวกันขององค์กรประชาชนในระดับชุมชน และ/หรือ ในระดับเครือข่ายภายในระบบนิเวศชุดหนึ่ง เพื่อแสวงหาทางเลือกในการพัฒนาตนเอง รวมทั้งการจัดการการใช้ประโยชน์จากธรรมชาติแวดล้อมสำหรับการท่องเที่ยวอย่างยั่งยืนและเป็นธรรมบนฐานของภูมิปัญญาท้องถิ่นซึ่งเน้นหลักด้านศีลธรรม และความมั่นคงในการยังชีพของชุมชน ตลอดจนความสมดุลของสภาพแวดล้อมธรรมชาติเป็นสำคัญ

## วิธีการ

โครงการวิจัยนี้เป็นงานวิจัยพื้นฐาน (Basic research) ซึ่งมุ่งเน้นการสังเกตการณ์แบบมีส่วนร่วม (Participant observation) การเก็บข้อมูลเพื่ออธิบายปรากฏการณ์ทางสังคมในส่วนที่เกี่ยวกับสัมพันธภาพระหว่างชุมชนกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ และเป็นงานวิจัยเชิงนโยบายและปฏิบัติการ (Policy-cum-action research) โดยเน้นการค้นหานโยบายที่เหมาะสมต่อการพัฒนาการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ แสวงหาแนวทาง กิจกรรม และมาตรการในการส่งเสริมความเข้มแข็งของชุมชนท้องถิ่นในการจัดการทรัพยากร และการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านขั้นตอนการดำเนินการต่างๆ โดยสังเขปดังนี้

1. สำรวจพื้นที่เพื่อคัดเลือกหมู่บ้านสำหรับทำวิจัยและเก็บข้อมูล โดยมีเงื่อนไข เช่น เป็นหมู่บ้านที่ค่อนข้างเก่า มีความหลากหลายทางชาติพันธุ์ และวัฒนธรรม ตั้งอยู่บนเส้นทางการท่องเที่ยวหลักของจังหวัดแม่ฮ่องสอน เป็นชุมชนที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากการท่องเที่ยว ทรัพยากรธรรมชาติของชุมชนยังคงสภาพสมบูรณ์ และมีระบบการจัดการทรัพยากร เช่น การอนุรักษ์ป่าในรูปของป่าชุมชน จากการสำรวจพื้นที่ โครงการวิจัยได้คัดเลือกไว้ 7 แห่ง คือ บ้านปางหมู (ไทใหญ่), บ้านห้วยโป่งอ่อน (กะเหรี่ยงแดง), บ้านรักไทย (จีนฮ่อ) อำเภอเมือง, บ้านผามอน (มูเซอร์แดง), บ้านน้ำไคร้ (มูเซอร์ดำ), บ้านเมืองแพม (ปกากะญอ) และบ้านน้ำริน (ลีซอ) อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน

2. จัดเวทีร่วมกับชุมชน เพื่อให้เข้าใจในวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย และมีส่วนร่วมในการกำหนดกรอบและแนวทางในการพัฒนากิจกรรมการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ และเลือกผู้ช่วยนักวิจัยจากชาวบ้านเพื่อเก็บข้อมูลสนามร่วมกับนักวิจัยโดยมีประเด็นดังนี้ คือ 1) ลักษณะทางกายภาพของพื้นที่ เช่น ที่ตั้ง ความสูง สภาพป่า เป็นต้น 2) ประวัติความเป็นมาของชุมชน การตั้งถิ่นฐาน ปัญหาที่เกิดขึ้นในอดีต ความขัดแย้งภายในชุมชนและระหว่างชุมชน 3) สภาพทางเศรษฐกิจและสังคม เช่น การถือครองที่ดิน ระบบการผลิต รายได้ รายจ่าย หนี้สิน ลักษณะองค์กรสังคม เช่น ระบบครอบครัว เครือญาติ ความเชื่อ และพิธีกรรม เป็นต้น 4) ลักษณะเด่นทางวัฒนธรรม เช่น ประเพณีการเต้นรำ ศิลปหัตถกรรม เครื่องแต่งกาย เป็นต้น และ 5) ระบบการจัดการทรัพยากร แบ่งข้อมูลเป็น 3 ส่วนคือ การจัดเก็บข้อมูลเกี่ยวกับทรัพยากรที่ชาวบ้านใช้ในชีวิตประจำวัน ข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการที่ชาวบ้านจัดการและอนุรักษ์ทรัพยากร และข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการจัดการทรัพยากรกับระบบความเชื่อและจารีตประเพณี โดยข้อมูลที่จัดเก็บเป็นพื้นฐานการวิเคราะห์เ พื่อประเมินศักยภาพของชุมชนในการจัดการทรัพยากร เพื่อนำไปสู่การจัดเตรียมกิจกรรม และมาตรการต่างๆ เสริมสร้างความเข้มแข็งของชุมชน และเตรียมความพร้อมของชุมชนในการจัดการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ

## ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยเพื่อแสวงหาความรู้เกี่ยวกับสภาพปัญหาที่เกิดขึ้น และกำลังดำเนินไปในส่วนที่เกี่ยวกับ

ผลกระทบของการท่องเที่ยวต่อสภาพแวดล้อมธรรมชาติ และอัตลักษณ์ทางวัฒนธรรมของกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ทำให้สามารถนำเสนอผลการวิจัยเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศโดยจำแนกได้ 6 ประเด็นดังนี้

***1. การท่องเที่ยว อคติทางชาติพันธุ์ และปัญหาความด้อยพัฒนาของคนชายขอบ***

สังคมไทยมักมอง กลุ่มชาติพันธุ์ ต่างๆ ว่าเป็น คนอื่น (The other) โดยเฉพาะกลุ่มบนที่สูงซึ่งถูกขนานนามว่า ชาวเขา ทั้งๆ ที่บางกลุ่มมีประวัติความเป็นมายาวนาน และเกี่ยวข้องกับพัฒนาการของสังคมไทยอย่างแนบแน่น แต่ถูกมองว่าเป็น คนล้าหลัง ไม่รู้หนังสือ หรือหยิบปรากฏการณ์บางอย่างมาและเหมารวมว่าเป็นอย่างนั้นไปเสียทั้งหมด เช่น การกล่าวโทษกลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูงว่าเป็นตัวการในการตัดไม้ทำลายป่า ทำลายต้นน้ำ หรือค้ายาเสพติด อคติทางชาติพันธุ์เหล่านี้ได้รับเสริมสร้างและตอกย้ำในกระบวนการสร้างรัฐชาติของไทย และเป็นแหล่ง “รวมเลือดเนื้อชาติเชื้อไทย” ตามอุดมการณ์ชาตินิยมในสมัยสงครามโลกครั้งที่สอง แม้ว่าจะประสบความสำเร็จระดับหนึ่งในการสร้างความเป็นชาตินิยม แต่ขณะเดียวกันกลายเป็นแหล่งบ่มเพาะวิธีคิดแบบอำนาจนิยม และการรวมศูนย์อำนาจของรัฐไทย โดยปฏิเสธความหลากหลายทางวัฒนธรรม ประวัติศาสตร์ท้องถิ่นที่เกิดขึ้น และดำเนินมาก่อนที่ “รัฐชาติ” จะก่อกำเนิดขึ้น กลุ่มชาติพันธุ์อื่นๆ ในสังคมไทยถูกบีบให้ต้องยอมรับความเป็นไทยที่นิยามโดยรัฐ โดยผ่านนโยบายผสมกลมกลืนและครอบงำทางวัฒนธรรมในรูปแบบต่างๆ หรือถูกนิยามให้เป็นคนอื่น ซึ่งนำไปสู่การเป็นคนชายขอบ ไร้สัญชาติ ถูกกีดกันสิทธิ และถูกเลือกปฏิบัติอย่างไม่เป็นธรรม ทั้งในด้านนโยบายและระดับปฏิบัติ

ในช่วงสามทศวรรษที่ผ่านมา กลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูงได้รับความสนใจจากรัฐมากขึ้น เนื่องจากปัญหาการแพร่กระจายของลัทธิคอมมิวนิสต์บนที่สูง ซึ่งสามารถชักจูงกลุ่มชนบนที่สูงจำนวนหนึ่งให้หลงเชื่อ และเป็นปฏิปักษ์ต่อรัฐ การเผยแพร่ลัทธิคอมมิวนิสต์ทำให้รัฐบาลในสมัยนั้น หันมาสนใจพัฒนาและสงเคราะห์กลุ่มชนบนที่สูงเพิ่มขึ้น โดยต้องการให้กลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูงอยู่ในพื้นที่ชายขอบต่อไปเพื่อเป็นกันชนให้กับรัฐ ขณะเดียวกันอคติทางชาติพันธุ์ที่หยั่งรากลึกในรัฐไทย ทำให้หน่วยงานราชการต่างๆ ใช้คนชายขอบเป็นแพะรับบาปเพื่อกล่าวโทษว่าเป็นสาเหตุของปัญหาต่างๆ มากมาย เช่นความมั่นคงของชาติ การแพร่ระบาดของยาเสพติด หรือการตัดไม้ทำลายป่า เป็นต้น

ช่วงที่สังคมไทยเข้าสู่ระบบทุนนิยม กลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ต้องเผชิญกับแรงบีบจากรัฐ และความขัดแย้งเชิงนโยบายอันเกิดจากมองปัญหาผิดพลาดในสองด้านด้วยกัน คือ ด้านหนึ่ง รัฐมองกลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูงว่าเป็นตัวการทำลายสภาพแวดล้อม จึงใช้นโยบายอนุรักษ์ป่าเป็นข้ออ้างกดดัน ด้วยการขยายพื้นที่อุทยานแห่งชาติ พื้นที่อนุรักษ์ เขตต้นน้ำลำธาร เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า ฯลฯ ทับพื้นที่ทำกินของชาวเขา และไม่อนุญาตให้ทำการผลิตแบบย้ายที่ (Shifting cultivation) อีกต่อไป แต่อีกด้านหนึ่ง รัฐสนับสนุนให้กลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูงหันมาทำการเพาะปลูกพืชพาณิชย์เพิ่มขึ้น จึงเกิดการขยายพื้นที่การผลิตในกลุ่มชนที่หันมาปลูกพืชใหม่ เช่น ขิง กะหล่ำปลี มะเขือเทศ ฯลฯ มีการใช้ปุ๋ย สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ซึ่งสร้างมลพิษในดินและแหล่งน้ำ นโยบายที่ขัดแย้งกันเองทั้งสองด้านนี้ ล้วนส่งผลให้กลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูงถูกขับออกจากพื้นที่เดิมของตน ถูกจำกัดสิทธิ ยังผลให้หลายกลุ่มยากจนลง ส่งผลกระทบต่อศักดิ์ศรี และอัตลักษณ์ทางวัฒนธรรมของกลุ่มชนเหล่านี้เป็นอย่างมาก

การเข้ามาของทุนนิยมยังเป็นการเข้าไปหาประโยชน์จากกลุ่มชนต่างๆ ในฐานะเป็นผู้บริโภค เป็นแรงงานในระบบเกษตรแบบพันธสัญญา (Contract farming) หรือในรูปของการท่องเที่ยว ซึ่งล้วนนำมาซึ่งการเปลี่ยนแปลงความสัมพันธ์ทางสังคม และการปรับตัวทางวัฒนธรรมอย่างรวดเร็ว ดังนั้น ปัญหาที่กลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ เผชิญอยู่ คือ การกำหนดตัวเองในความสัมพันธ์ทางสังคมใหม่นี้ว่า พวกเขาจะอยู่อย่างไร ความสัมพันธ์ระหว่างพวกเขากับทุน รัฐ และคนพื้นราบจะดำเนินไปในลักษณะใด

เมื่อรัฐสนับสนุนอุตสาหกรรมท่องเที่ยวซึ่งเป็นแหล่งรายได้สำคัญของประเทศอย่างจริงจัง ในช่วงสิบกว่าปีมานี้ รัฐมุ่งเน้นขายความงามของธรรมชาติแวดล้อม และความหลากหลายทางวัฒนธรรมของกลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูงเป็นหลัก โดยไม่มีนโยบายการท่องเที่ยวที่ชัดเจนว่า กลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ซึ่งเป็นแหล่งดึงดูดหรือจุดขายของการท่องเที่ยวนั้น ควรได้รับการพัฒนาหรือได้รับผลประโยชน์จากการท่องเที่ยวอย่างไร

ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา การท่องเที่ยวกลายเป็นกิจกรรมที่ถูกผูกขาดโดยบริษัทเอกชน ซึ่งให้ความสนใจกับการทำกำไร โดยไม่คำนึงถึงผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม และอัตลักษณ์ทางวัฒนธรรม กลุ่มชาติพันธุ์บางกลุ่ม เช่น กะเหรี่ยงคอยาว ถูกโยกย้ายและแย่งชิง เพื่อให้นักท่องเที่ยวเข้าชมประหนึ่งเป็นสวนสัตว์มนุษย์ (Human zoo) การเข้ามาของบริษัทนำเที่ยวยังก่อให้เกิดความขัดแย้งภายในชุมชน เนื่องจากไม่มีการกระจายผลประโยชน์จากการท่องเที่ยวออกไปในวงกว้าง ค่าตอบแทนจึงอยู่ในมือของคนเพียงไม่กี่คน เช่น ผู้ใหญ่บ้าน ซึ่งมักมีฐานะดีอยู่แล้ว และกลุ่มคนรวยในชุมชน ซึ่งสามารถสร้างหรือขยายบ้านพักเพื่อรับรองนักท่องเที่ยวได้ ชาวบ้านทั่วไปอาจได้รับประโยชน์จากการขายสินค้าหัตถกรรม และเป็นลูกหาบบริการนักท่องเที่ยวอยู่บ้าง แต่ต้องแบกรับภาระปัญหาที่เกิดจากขยะ ความเสื่อมโทรมของระบบนิเวศ เช่น การนำช้างเข้ามาเลี้ยงในบางชุมชน ซึ่งส่งผลกระทบต่อความอุดมสมบูรณ์ของป่า และก่อให้เกิดปัญหาการบุกรุกพืชไร่และสวน ธุรกิจท่องเที่ยวจึงทำให้เกิดความแตกต่างทางชนชั้นและความขัดแย้งในชุมชนเพิ่มมากขึ้น

ด้วยเหตุนี้จึงอาจกล่าวได้ว่าบริบทของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในจังหวัดแม่ฮ่องสอน และเขตภาคเหนือตอนบน เป็นบริบทของสภาวะความด้อยพัฒนาของชนบทห่างไกล ชาวบ้านเป็นผู้ถูกเที่ยวและถูกเอารัดเอาเปรียบในด้านค่าตอบแทน หลายกลุ่มมีฐานะยากจน บางกลุ่มมีปัญหาด้านสัญชาติ และฐานะความเป็นพลเมือง เงื่อนไขปัจจัยเหล่านี้ล้วนแต่ส่งผลให้กลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ไม่มั่นใจในตนเอง โดยเฉพาะการต่อรองกับบุคคลภายนอกที่เข้ามาทำลายสภาพแวดล้อม หรือละเมิดต่อจารีตประเพณี และศักดิ์ศรีทางวัฒนธรรม ปัญหาพื้นฐานของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศจึงมีว่า ทำอย่างไรจึงจะสร้างเสริมให้ชุมชนมีความเข้มแข็ง มีองค์กรชุมชนที่สามารถจัดการทรัพยากร และธรรมชาติแวดล้อมอย่างยั่งยืน มีความสำนึกในศักดิ์ศรีทางชาติพันธุ์ วัฒนธรรม สามารถพัฒนาศักยภาพในการจัดการชีวิต และความสัมพันธ์กับพลังภายนอกอื่นๆ ได้ในอนาคต

***2. การท่องเที่ยวเชิงนิเวศกับศักยภาพของชุมชนในการจัดการทรัพยากร***

ตลอดระยะเวลาเกือบ 2 ปีที่ผ่านมา คณะวิจัยของโครงการท่องเที่ยวเชิงนิเวศได้ศึกษาระบบการจัดการทรัพยากรของชุมชน 7 แห่ง พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างชุมชนกับธรรมชาติแวดล้อม ไม่เป็นความสัมพันธ์ที่ราบเรียบและหยุดนิ่ง แต่มีปัญหาต่างๆ มากมาย เช่นการต่อสู้กับความผันแปรของธรรมชาติ ความขัดแย้งทางสังคม และความสัมพันธ์กับสังคมภายนอก ทั้งกับชุมชนอื่นๆ ตลอดจนต้องเกี่ยวข้องกับรัฐ และตลาด ดังนั้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเงื่อนไขทางเศรษฐกิจ และนโยบายทางการเมือง ชุมชนจึงต้องเปลี่ยนรูปแบบความสัมพันธ์ทางสังคม ระบบการผลิตและการจัดการทรัพยากรอยู่ตลอดเวลา ชุมชนต่างๆ ทั้งขนาดใหญ่และเล็ก มีวิถีการผลิตแบบยังชีพ และแบบผสมผสานก้ำกึ่งระหว่างการผลิตเพื่อยังชีพกับการผลิตเพื่อขาย มีทั้งชุมชนเก่าและใหม่ ชุมชนพื้นราบ และชุมชนบนที่สูง ความแตกต่างหลากหลายเหล่านี้ แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการจัดการทรัพยากรอยู่หลายประการด้วยกัน คือ

2.1 ชุมชนที่เป็นพื้นที่ท่องเที่ยวมักมีทรัพยากรธรรมชาติสวยงาม มีสภาพป่าสมบูรณ์อุดมไปด้วยไม้ป่า เฟิร์น นก น้ำตก และถ้ำ ความงดงามเหล่านี้ทำให้นักท่องเที่ยวเลือกเข้ามาชม และบริษัทนำเที่ยวก็ใช้ประโยชน์มาโดยตลอด ความอุดมสมบูรณ์ยังสัมพันธ์อย่างแนบแน่นกับการผลิตในภาคเกษตรซึ่งเป็นฐานเศรษฐกิจหลักของชุมชนด้วย

2.2 การที่ทรัพยากรธรรมชาติยังคงความสมบูรณ์ และสวยงามอยู่ได้นั้นมิได้เกิดขึ้นเอง แต่เกิดจากการที่ชุมชนต่างๆ มีระบบการผลิตและการจัดการทรัพยากรอย่างชัดเจน มีการแบ่งพื้นที่ป่าเป็นประเภทต่างๆ เช่น ป่าอนุรักษ์ ป่าพิธีกรรม ป่าใช้สอย ฯลฯ มีการกำหนดขอบเขตพื้นที่ป่าของชุมชน ออกกฎระเบียบในการใช้ป่า ตลอดจนกำหนดบทลงโทษสำหรับผู้ฝ่าฝืน การนำเอาความเชื่อ อุดมการณ์ และพิธีกรรม มาเป็นแนวทางในการกำหนดกฎเกณฑ์ที่ใช้ในการจัดการทรัพยากร ที่ดิน และแหล่งน้ำของหมู่บ้าน เช่น ความเชื่อในเรื่องผี เป็นต้น

2.3 หมู่บ้านที่มีศักยภาพในการจัดการทรัพยากรมักมีสำนึกในความเป็นชุมชนสูง การรักษาทรัพยากรธรรมชาติให้คงความอุดมสมบูรณ์เป็นเรื่องของผลประโยชน์ร่วมกันของชุมชน ทั้งในด้านการผลิต การเก็บหาอาหาร อีกทั้งยังเป็นแหล่งรายได้จากการท่องเที่ยวอีกด้วย

2.4 ศักยภาพของชุมชนในการจัดการทรัพยากรแสดงออกอย่างชัดเจนในวิถีชีวิต และวัฒนธรรมการผลิต ในจิตสำนึกของการอนุรักษ์ ในรูปแบบวิธีการจัดการป่า จารีตประเพณีและกฎเกณฑ์ต่างๆ ที่ชาวบ้านใช้ในวัฒนธรรมการผลิต และการจัดการทรัพยากรแสดงให้เห็นชัดเจนว่า ชาวบ้านมีความเข้าใจอย่างลึกซึ้งถึงความเป็นไปของ

สภาพแวดล้อม และระบบนิเวศชุมชน การสังเกตและสั่งสมประสบการณ์มาหลายชั่วอายุคน ทำให้ความรู้เกี่ยวกับธรรมชาติ ต้นไม้ สมุนไพร ความหลากหลายทางชีวภาพ ตลอดจนความสัมพันธ์ระหว่างคนกับระบบนิเวศตกผลึกเป็นภูมิปัญญาและมีวิธีคิดอย่างเป็นระบบ ภูมิปัญญาท้องถิ่นที่เกี่ยวกับระบบนิเวศชุมชนพอสรุปได้ดังนี้

2.4.1 ความรู้เกี่ยวกับความสัมพันธ์ของดิน-น้ำ-ป่า กับคน ภายในระบบนิเวศชุดหนึ่ง ชาวบ้านในชุมชนทุกแห่งมีความเข้าใจดีว่าป่ากับน้ำเชื่อมโยงกับความสมบูรณ์ของดิน หากป่าหมดจะไม่มีน้ำในลำห้วย ระบบการผลิตของชุมชนจะด้อยประสิทธิภาพลง ชุมชนเดือดร้อนเพราะทุกอย่างสัมพันธ์เชื่อมโยง และพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน

2.4.2 ความรู้เกี่ยวกับโครงสร้างและลักษณะของป่า ชาวบ้านในชุมชนทุกแห่งมีความเข้าใจเกี่ยวกับการจัดลำดับชั้นของต้นไม้ และพืชในป่า ชาวบ้านสามารถจำแนกป่าเป็นประเภทต่างๆ เพื่อการใช้สอยในชีวิตประจำวัน และเพื่อการอนุรักษ์ได้อย่างชัดเจน

2.4.3 รู้เกี่ยวกับการหมุนเวียนของธาตุอาหารในดิน ความเชื่อมโยงของมวลชีวภาพในระบบนิเวศเขตร้อนซึ่งเห็นได้ชัดในระบบการทำไร่หมุนเวียน การเผาต้นไม้แห้งจะช่วยเติมธาตุอาหารในดิน การปลูกพืชซ้ำในที่ดินแปลงเดิมติดต่อกันหลายปีจะทำให้ความอุดมสมบูรณ์ของดินลดลง และจะฟื้นขึ้นมาได้เมื่อเลิกปลูกไปสักระยะหนึ่ง

2.4.4 ความรู้เกี่ยวกับการทดแทนในสังคมพืชหลังจากมีการรบกวนระบบนิเวศ พื้นที่ไร่ที่ถูกทิ้งร้างไปไม่ได้ทำการเพาะปลูกอีก จะค่อยๆ พัฒนาขึ้นจนกลายเป็นป่าในที่สุด นอกจากนั้นชาวบ้านยังมีความรู้เกี่ยวกับพันธุ์ไม้เด่นในป่า พันธุ์ไม้ที่ช่วยอุ้มน้ำ และฟื้นสภาพป่า พันธุ์ไม้ที่มีคุณประโยชน์ในด้านอาหาร สมุนไพร ฟืน ไม้ใช้สอย ฯลฯ

ข้อมูลจากการศึกษาวิจัยในพื้นที่ต่างๆ แสดงให้เห็นว่าภูมิปัญญาท้องถิ่นเป็นพื้นฐานสำคัญของระบบการจัดการทรัพยากรในชุมชน อย่างไรก็ตาม เมื่อชุมชนต้องเผชิญกับการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ทั้งในด้านเศรษฐกิจ การเมือง และความสัมพันธ์กับภายนอก โดยเฉพาะเรื่องการท่องเที่ยว ชุมชนแต่ละแห่งจึงต้องปรับเปลี่ยนแนวทางในการจัดการทรัพยากรในลักษณะที่แตกต่างกัน ชุมชนบางแห่ง เช่น ชาวปกากะญอบ้านเมืองแพม รักษาจารีตประเพณีและวิถีชีวิตดั้งเดิมที่ผูกพันกับป่าไว้ได้ระดับหนึ่ง นำเอาความเชื่อในพุทธศาสนา เช่น การบวชป่า มาเป็นยุทธวิธีในการขยายพื้นที่ป่าอนุรักษ์ การเห็นความสำคัญของการจัดการทรัพยากรเพื่อการท่องเที่ยวยังทำให้ชาวบ้านเมืองแพมเริ่มต้นโครงการลดการทำไร่บนต้นน้ำแพม อีกทั้งทำการอนุรักษ์วังปลา โป่งนก และปลูกพืชที่เป็นอาหารนก ทำให้ผืนป่าของหมู่บ้านเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นนอกเหนือไปจากการขี่ช้างล่องแพเพียงอย่างเดียว นักท่องเที่ยวได้มีโอกาสชมนก และปลาในพื้นที่ป่ารอบหมู่บ้าน ชาวมูเซอแดงบ้านผามอน เตรียมความพร้อมเพื่อเพิ่มศักยภาพในการจัดการทรัพยากร โดยทำแนวเขตป่าอนุรักษ์เป็นพื้นที่ 2,000 ไร่ ออกกฎไม่ให้บุกรุกตัดฟันหรือล่าสัตว์ ลดพื้นที่ทำไร่บริเวณรอบหมู่บ้าน มีการปลูกป่าเสริมตามถนนทางเข้าและบริเวณหมู่บ้าน และปรับการเลี้ยงวัวเพื่อลดผลกระทบต่อการฟื้นสภาพของป่า ในบ้านมูเซอดำบ่อไคร้ เริ่มบวชป่าต้นน้ำ และปลูกป่าเสริมประมาณ 300 ไร่ มีการปลูกต้นไม้บนเส้นทางเดินป่า และบริเวณริมถนนทางเข้าหมู่บ้าน ชาวลีซอบ้านน้ำรินริเริ่มโครงการอนุรักษ์ป่าต้นน้ำจิ้งจ้องกว่า 500ไร่ และปลูกต้นไม้เสริมในพื้นที่ป่ารอบหมู่บ้าน บ้านกะเหรี่ยงแดงห้วยโป่งอ่อน จัดระบบการทำไร่ มีการกันพื้นที่อนุรักษ์ป่าต้นน้ำดอยอุ้น และลดพื้นที่ทำไร่บริเวณที่สูง ชาวจีนฮ่อบ้านรักไทยเริ่มจัดทำโครงการปลูกต้นไม้รอบหมู่บ้าน และริมอ่างน้ำเพื่อความสวยงามและร่มรื่น และบ้านปางหมูซึ่งเป็นชุมชนติดแม่น้ำปาย เริ่มจัดทำโครงการสืบชะตาแม่น้ำปาย และเขตอภัยทานเพื่อเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุ์ปลาน้ำปายบริเวณหมู่บ้านที่ติดแม่น้ำ

แม้ว่าชุมชนในพื้นที่โครงการทุกแห่ง จะแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการจัดการทรัพยากรได้อย่างชัดเจน แต่มีประเด็นที่ควรพิจารณาอย่างน้อย 3 ประการ คือ 1) ผลกระทบของการท่องเที่ยวต่อสภาพแวดล้อม แม้ปัจจุบันนักท่องเที่ยวยังมีไม่มาก แต่ผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมเริ่มเห็นได้ชัดในหลายพื้นที่ เช่น บ้านเมืองแพม มีการนำช้างมาเลี้ยงในหมู่บ้านเพื่อบริการนักท่องเที่ยว ก่อให้เกิดปัญหาการจัดหาพื้นที่ป่าเพื่อรองรับการหากินของช้าง การท่องเที่ยวเชิงนิเวศในแต่ละพื้นที่จึงต้องกำหนดความสามารถในการรองรับนักท่องเที่ยว (Carrying capacity) เพื่อมิให้การท่องเที่ยวส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมเกินกว่าขีดความสามารถในการจัดการทรัพยากรของชุมชน 2) บทบาทและการปรับตัวขององค์กร และผู้นำชุมชนท่ามกลางกระแสของการเปลี่ยนแปลง ในอดีตการรวมตัวของชาวบ้าน

เป็นไปบนพื้นฐานของความสัมพันธ์ทางเครือญาติ ผู้นำที่มีบทบาทสำคัญในการจัดการทรัพยากรมักจะมาจากกลุ่มผู้นำดั้งเดิม และได้ประโยชน์จากการท่องเที่ยว ในขณะที่คนส่วนใหญ่ในชุมชนไม่ได้ประโยชน์ การขอความร่วมมือจากสมาชิกของชุมชนเพื่อทำการอนุรักษ์ธรรมชาติแวดล้อมจึงเป็นไปได้ยาก นอกจากนั้น ความแตกต่างของผลประโยชน์ที่เพิ่มมากขึ้นทำให้องค์กรชุมชนมีปัญหาในการจัดการความขัดแย้งอันเนื่องจากการแย่งชิงทรัพยากรเพิ่มมากขึ้น และ 3) แม้ชุมชนส่วนใหญ่มีศักยภาพในการจัดการทรัพยากร และมีผลประโยชน์จากการท่องเที่ยวเป็นแรงจูงใจให้เกิดกิจกรรมและโครงการใหม่ๆ อย่างต่อเนื่อง แต่ยังขาดการรวมตัวเพื่อรักษาธรรมชาติแวดล้อม ยิ่งไปกว่านั้นการผูกขาดการจัดการทรัพยากรโดยรัฐยังทำให้ชุมชนขาดสิทธิในการจัดการทรัพยากรตามรัฐธรรมนูญฉบับใหม่ ขาดความมั่นใจในการทำงาน โดยเฉพาะประชาชนบนที่สูงซึ่งถูกมองว่าเป็นสาเหตุของปัญหา

ด้วยเหตุนี้ ศักยภาพของชุมชนในการจัดการทรัพยากรจึงไม่พัฒนาไปจากเดิม และปราศจากการรับรองสิทธิตามกฎหมาย เช่น การออกพระราชบัญญัติป่าชุมชน เพื่อชุมชนมีสิทธิในการจัดการทรัพยากรได้

***3. การท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ศักดิ์ศรี และอัตลักษณ์ทางวัฒนธรรม***

การท่องเที่ยวได้รับขนานนามว่าเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ที่นำรายได้เข้าประเทศเป็นจำนวนมาก และเป็นกลไกสำคัญในการพัฒนาท้องถิ่นให้เจริญก้าวหน้าขึ้น จึงมักถูกมองแต่เพียงด้านบวกโดยเน้นในเรื่องของเงิน และความเจริญเป็นสำคัญ ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา มีการพูดถึงปัญหาผลกระทบของการท่องเที่ยวต่อสภาพแวดล้อมเพิ่มมากขึ้น (Parnwell, 1993) แต่ประเด็นที่มองข้ามไปคือ การท่องเที่ยวมีผลกระทบอย่างไรต่อวิถีชีวิต วัฒนธรรมประเพณี ศักดิ์ศรี และอัตลักษณ์ทางชาติพันธุ์ของกลุ่มชนที่ถูกเที่ยว (Wood, 1993) ประเด็นสำคัญเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ คือ นักท่องเที่ยวเป็นตัวแทนของความทันสมัยที่เข้ามาเปลี่ยนแปลงหรือทำลายวัฒนธรรมท้องถิ่น หรือเป็นผู้เรียนรู้เกี่ยวกับระบบนิเวศซึ่งสัมพันธ์เชื่อมโยงกับระบบการผลิต วัฒนธรรมประเพณี และวิถีชีวิตของชุมชนท้องถิ่น คำถามเกี่ยวกับศักดิ์ศรีและอัตลักษณ์ทางวัฒนธรรม (Graburn, 1983; Crick, 1985; Wood, 1993) ทำให้การประเมินการท่องเที่ยวจากต้นทุนธรรมชาติ และรายได้เพียงอย่างเดียวไม่เพียงพออีกต่อไป

การที่การท่องเที่ยวในประเทศโลกที่สามเจริญเติบโตขึ้นในบริบทของกระบวนทัศน์เรื่อง “การพัฒนา” ตามทฤษฎีทันสมัย (Modernization theory) ซึ่งเน้นการเจริญเติบโตและการขยายตัว มองว่า “วัฒนธรรม” เป็นอุปสรรคกีดขวางการพัฒนา (Yos, 1998) ทำให้การท่องเที่ยวไม่เคยถูกใส่ใจในประเด็นเกี่ยวกับผลกระทบของการพัฒนามาตั้งแต่ต้น อย่างไรก็ตาม ในช่วงสองทศวรรษที่ผ่านมา งานของนักวิชาการหลายท่านในด้านของมนุษยวิทยาว่าด้วยการท่องเที่ยว (Anthropology of Tourism) โดยเฉพาะ MacCannell (1976), Greenwood (1977), Nash (1977) และ Cohen (1988) เริ่มตั้งคำถามเกี่ยวกับผลกระทบของการท่องเที่ยวต่อการทำลายวัฒนธรรมในรูปแบบแท้จริง (Cultural authenticity) ซึ่งมองว่าวัฒนธรรมมิใช่เป็นอุปสรรคของการพัฒนา มิใช่สิ่งที่แน่นอนตายตัว และสืบทอดมาแต่ในอดีต ในทางตรงกันข้ามวัฒนธรรมมีศักยภาพในการปรับเปลี่ยน (Adaptive) และเป็นสิ่งที่มนุษย์สร้างขึ้นในปัจจุบัน (Constructed in the present) ปัญหาของการพัฒนาจึงมิได้อยู่ที่ว่าวัฒนธรรมนั้นกีดขวางการพัฒนา แต่มาจากคนนอกซึ่งพยายามเอาวัฒนธรรมของคนกลุ่มต่างๆ มาเป็นจุดขาย ในภาคเหนือตอนบน การนำเอาวัฒนธรรมของชนกลุ่มต่างๆ มาขายเป็นสิ่งที่พบเห็นได้ในโปรแกรมการท่องเที่ยวต่างๆ เช่น การแสดงอีก้อลุยไฟ และอีก้อโล้ชิงช้า ทั้งๆ ที่ชาวอาข่าหรืออีก้อ จะทำพิธีโล้ชิงช้าเพียงปีละหนในช่วงเทศกาลปีใหม่ แต่บริษัทนำเที่ยวหลายแห่งพานักท่องเที่ยวเข้าไปในหมู่บ้าน และว่าจ้างให้ชาวบ้านโล้ชิงช้าทุกสัปดาห์ ในทำนองเดียวกัน ชุมชนมูเซอดำบ้านบ่อไคร้ มีการเต้นจะคึรอบกองไฟเพื่อให้นักท่องเที่ยวชมโดยไม่ได้อยู่ในช่วงพิธีกรรมตามประเพณี ในลักษณะเช่นนี้จึงสูญเสียรูปแบบแท้จริง (Authenticity) และ
ถูกลดค่าลงเป็นการแสดงเพื่อนักท่องเที่ยว (Tourist display) เท่านั้น

การแสดงดังกล่าวอาจหลอกนักท่องเที่ยวได้ในระยะสั้น แต่มีผลกระทบอย่างรุนแรงต่อศักดิ์ศรี และอัตลักษณ์ทางวัฒนธรรมของกลุ่มชาติพันธุ์ ในปัจจุบันวัฒนธรรมท้องถิ่นและอัตลักษณ์ของกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ที่นำเสนอโดยบริษัทนำเที่ยวและหน่วยงานราชการเพื่อเป็นจุดขาย ล้วนเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการทำให้กลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ กลายเป็นไทย (Thaisation) ด้วยการลดความหมายและคุณค่าของวัฒนธรรมประเพณีลงเป็นเพียง สินค้าแลกเปลี่ยนกับ

ค่าจ้างเงินตราเท่านั้น ในบ้านกะเหรี่ยงแดงห้วยโป่งอ่อน ไกด์นำเที่ยวจะนัดหมายกับแม่บ้านชาวกะเหรี่ยงแดง 3-4 ราย ให้แต่งตัวชุดกะเหรี่ยงเมื่อมีนักท่องเที่ยวเดินทางเข้ามา โดยให้ค่าตอบแทนรายละ 100-150 บาทต่อครั้ง ทั้งๆ ที่ในชีวิตจริงผู้หญิงกะเหรี่ยงไม่ได้แต่งกายเช่นนั้นแล้ว ในลักษณะดังกล่าวจึงเป็นเพียงการแสดงเพื่อให้นักท่องเที่ยวดูโดยไม่มีความหมายทางวัฒนธรรมอีกต่อไป

การเตรียมความพร้อมของชุมชนทั้ง 7 แห่ง ในพื้นที่โครงการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ มีหลักพื้นฐานสำคัญ คือ การให้ประชาชนในท้องถิ่นกำหนดว่าต้องการนำเสนอตนเองว่าเป็นใคร การเป็นกะเหรี่ยง มูเซอแดง หรือกลุ่มชาติพันธุ์กลุ่มใดนั้นเป็นอย่างไร กระบวนการจัดทำโปรแกรมการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ต้องการให้นักท่องเที่ยวรู้จักขนบธรรมเนียมประเพณีและวิถีชีวิตในลักษณะใด การตั้งคำถามดังกล่าวทำให้ชาวบ้านเริ่มถกเถียงเกี่ยวกับตัวตนของเขา ซึ่งก่อให้เกิดกระบวนการสร้างความหมายให้กับวิถีชีวิตโดยผ่านการตีความขนบธรรมเนียมประเพณี ความเชื่อ พิธีกรรม ฯลฯ เพื่อเชื่อมโยงอดีตและปัจจุบันไปสู่อนาคต คณะกรรมการท่องเที่ยวในแต่ละหมู่บ้าน เริ่มให้ความสนใจเกี่ยวกับความหมายสัญลักษณ์ และวัฒนธรรมประเพณีของกลุ่มชาติพันธุ์ของตนเพิ่มมากขึ้น เพื่อสามารถอธิบายสิ่งเหล่านี้ให้กับนักท่องเที่ยว

แม้ว่ายังไม่อาจประเมินความสัมพันธ์ระหว่างการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ และนิยามความหมายของอัตลักษณ์ทางวัฒนธรรมได้อย่างเป็นรูปธรรมจากพื้นที่ศึกษา เนื่องจากเป็นช่วงเริ่มต้นของการจัดโปรแกรมการท่องเที่ยวโดยชุมชน แต่อย่างน้อยการท่องเที่ยวเชิงนิเวศช่วยกระตุ้นให้ชาวบ้านตั้งคำถามเกี่ยวกับตนเอง ความสัมพันธ์ระหว่างเขากับรัฐ ตลาด และนักท่องเที่ยว ซึ่งอาจเป็นก้าวแรกไปสู่การนิยามความหมายของตัวตนในรูปแบบใหม่ๆ ที่มีลักษณะเท่าเทียมกับภายนอกมากขึ้น

***4. ศักยภาพของชุมชนในการจัดการท่องเที่ยว***

การศึกษาวิจัยในพื้นที่ 7 แห่งของโครงการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ พบว่าการเตรียมความพร้อมของชุมชนประกอบด้วย 5 ขั้นตอน ดังนี้

4.1 การเตรียมความพร้อมขององค์กรชุมชน การจัดเวทีเพื่อหารือร่วมกับชาวบ้านตั้งแต่ช่วงเริ่มของโครงการด้วยการให้ชาวบ้านคัดเลือกตัวแทนเพื่อเป็นคณะกรรมการท่องเที่ยวของหมู่บ้าน ทำหน้าที่ในการวางแผน และจัดการการท่องเที่ยว รวมทั้งประสานงานกับคณะกรรมการหมู่บ้าน องค์การบริหารส่วนตำบล องค์กรพัฒนาเอกชน จัดทำโปรแกรมการท่องเที่ยวของหมู่บ้าน และรับฟังทัศนะด้านต่างๆ ของสมาชิกในชุมชน การกำหนดราคาค่าตอบแทน และการจัดสรรแบ่งปันรายได้โดยหักบางส่วนเข้ากองทุนชุมชน

4.2 จัดทำแผนงานและโปรแกรมการท่องเที่ยวของหมู่บ้าน รวมทั้งกำหนดบทบาทหน้าที่ของกลุ่มต่างๆ เช่น กลุ่มช้าง กลุ่มแพ กลุ่มแม่บ้าน ในการจัดการท่องเที่ยว จัดทำเส้นทางการท่องเที่ยว สถานที่สำคัญรอบๆ หมู่บ้าน จุดแวะพัก จุดขายของ จัดทำแผนพัฒนาภูมิทัศน์ของท้องถิ่น เช่น เส้นทางเข้าชมถ้ำ จุดชมวังปลา เป็นต้น และจัดทำรายละเอียดของสถานที่ท่องเที่ยว และรายการท่องเที่ยวของชุมชน

4.3 การเตรียมแผนโฆษณาประชาสัมพันธ์การท่องเที่ยวของชุมชน จัดทำแผ่นพับเพื่อโฆษณาโปรแกรมการท่องเที่ยวแจกจ่ายตามโรงแรม สนามบิน บริษัทนำเที่ยว เกสท์เฮ้าส์ และหมู่บ้านต่างๆ ขอความร่วมมือส่วนราชการและบริษัทเอกชนในการประชาสัมพันธ์โปรแกรมท่องเที่ยว รวมทั้งการนำโปรแกรมไว้ในอินเตอร์เน็ต

4.4 การเตรียมความพร้อมด้านการให้บริการท่องเที่ยวกับนักท่องเที่ยว ด้วยการประชุมปรึกษาหารือเกี่ยวกับสถานที่พัก ห้องน้ำ การรักษาความสะอาด และการพัฒนาบุคลากรในการให้บริการ เช่น การจัดอบรมมัคคุเทศก์ท้องถิ่นให้กับหนุ่มสาวในหมู่บ้าน ฝึกใช้ภาษาอังกฤษ ฝึกอบรมทางด้านหัตถกรรมเพื่อปรับปรุงผลิตภัณฑ์ประเภทหัตถกรรมของที่ระลึก การทอผ้า และการบรรจุหีบห่อจำหน่ายแก่นักท่องเที่ยว รวมทั้งมีการฝึกอบรมด้านการทำอาหารเพื่อบริการแก่นักท่องเที่ยว

4.5 คณะกรรมการท่องเที่ยวของหมู่บ้านมีหน้าที่ในการประชุมปรึกษาหารือเพื่อติดตามการทำงาน และจัดการความขัดแย้งในด้านต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้นในกระบวนการทำงาน

ทางโครงการได้จัดประชุมร่วมกับคณะกรรมการท่องเที่ยวของหมู่บ้านเป็นประจำ และกำหนดแนวทางการดำเนินงานขององค์กรชุมชนเพื่อพัฒนาการท่องเที่ยวเชิงนิเวศไว้ดังนี้

4.5.1 ชุมชนแต่ละแห่งควรพิจารณาการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในฐานะเป็นอาชีพเสริม

4.5.2 สมาชิกของชุมชนทั้งหมดควรได้รับประโยชน์จากการท่องเที่ยว ไม่ว่าจะเป็นประโยชน์โดยตรงจากที่พัก แรงงานหรือการขายผลิตภัณฑ์ ในขณะเดียวกันภาระและความรับผิดชอบในผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมควรเป็นหน้าที่ของสมาชิกชุมชนทุกคน

4.5.3 แต่ละหมู่บ้านควรเลือกพัฒนาจุดเด่นทางการท่องเที่ยวของตนเอง หลีกเลี่ยงการซ้ำซ้อนกับชุมชนอื่นๆ โดยเฉพาะการจัดงานเทศกาล และประเพณีต่างๆ เพื่อช่วยให้สามารถชักจูงนักท่องเที่ยวเข้ามาได้มากขึ้น

4.5.4 ชุมชนต้องคำนึงถึงผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมธรรมชาติ พยายามปรับปรุงสภาพแวดล้อมเพื่อเป็นแหล่งดึงดูดความสนใจของนักท่องเที่ยว พัฒนาศักยภาพในการถ่ายทอดเกี่ยวกับระบบนิเวศ ชนิดของนก กล้วยไม้ เฟิร์น โป่ง สัตว์ป่า วัฒนธรรมประเพณี และความหมายของสัญลักษณ์ทางวัฒนธรรมต่างๆ ให้นักท่องเที่ยวได้ เพราะสาระสำคัญของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศคือ การเรียนรู้ข้ามวัฒนธรรมเพื่อเปิดโอกาสให้นักท่องเที่ยว และชาวบ้านได้แลกเปลี่ยนประสบการณ์ และความเข้าใจซึ่งกันและกัน

แม้คณะกรรมการท่องเที่ยวของทุกชุมชนจะแสดงให้เห็นถึงความพร้อม ในการจัดการท่องเที่ยวได้ในระดับหนึ่ง แต่การจัดการของชุมชนยังมีข้อจำกัด คือ การขาดความมั่นใจในตนเอง เนื่องจากการจัดโปรแกรม และการโฆษณามีความล่าช้า นักท่องเที่ยวต่างประเทศซึ่งมักวางแผนล่วงหน้าเป็นเวลานาน จึงยังไม่มีนักท่องเที่ยวเข้ามา ชาวบ้านส่วนใหญ่ไม่กล้าต่อรองกับไกด์นำเที่ยว เพื่อปรับราคาค่าตอบแทน หรือเสนอขายโปรแกรมของหมู่บ้าน เพราะเกรงว่าไกด์จะไม่พอใจ และไม่พานักท่องเที่ยวเข้ามาในหมู่บ้าน และการจัดการความขัดแย้ง การเข้ามาของการท่องเที่ยวทำให้เกิดความแตกต่างทางชนชั้นในหมู่บ้านเพิ่มมากขึ้น ความขัดแย้งด้านผลประโยชน์ในชุมชนก็เพิ่มมากขึ้นด้วย แม้คณะกรรมการท่องเที่ยวของหมู่บ้านพยายามจัดเวทีเพื่อปรึกษาหารือ แลกเปลี่ยนความคิดเห็น ลดความขัดแย้งที่เกิดขึ้น แต่ความขัดแย้งบางอย่างก็ยังไม่อาจแก้ไขให้ลุล่วงไปได้ เช่น ความขัดแย้งระหว่างกลุ่มเลี้ยงช้างกับเจ้าของไร่บ้านเมืองแพม ซึ่งช้างมักทำให้ป่ามีสภาพเสื่อมโทรม และบุกรุกเข้าไปทำลายพืชไร่ของชาวบ้านอยู่เป็นประจำ

***5. การท่องเที่ยวกับการพัฒนาอย่างยั่งยืน***

การท่องเที่ยวเชิงนิเวศเป็นรูปแบบการสร้างโอกาสให้ชุมชนท้องถิ่นมีส่วนร่วมในการพัฒนาธรรมชาติแวดล้อมและวัฒนธรรมอย่างยั่งยืน ในโครงการนี้ ใช้ตัวชี้วัด (Indicators) เพื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการท่องเที่ยวเชิงนิเวศกับการพัฒนาอย่างยั่งยืน 4 อย่างด้วยกันคือ

5.1 ความสมบูรณ์ของธรรมชาติแวดล้อม การท่องเที่ยวเชิงนิเวศต้องสร้างความตระหนัก และกระตุ้นให้ชุมชนทำสภาพแวดล้อมธรรมชาติให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น หากพบว่าพื้นที่ป่ามีมากขึ้น มีการอนุรักษ์นก วังปลา โป่ง เฟิร์น กล้วยไม้ ปรับสภาพเส้นทางเดินให้เหมาะสมแก่การท่องเที่ยว แสดงว่าความสมบูรณ์ของธรรมชาติแวดล้อมมีแนวโน้มที่ดีขึ้นเป็นลำดับ

5.2 การกระจายรายได้ การท่องเที่ยวเชิงนิเวศต้องสร้างความเป็นธรรมในการกระจายรายได้ให้ทั่วถึง โครงการวิจัยเริ่มหักรายได้ส่วนหนึ่ง หรือประมาณร้อยละ 10 จากการท่องเที่ยวเพื่อจัดตั้งกองทุนของชุมชน มีการสร้างระบบหมุนเวียนในการบริการที่พัก ลูกหาบ และการบริการนักท่องเที่ยวในรูปแบบอื่น ๆ เช่น ช้าง แพ การผูกขาดรายได้เริ่มเป็นธรรมมากขึ้น

5.3 โครงการพัฒนาชุมชน การนำเงินรายได้จากกองทุนชุมชนมาใช้เพื่อดำเนินโครงการพัฒนา เช่น การให้ทุนการศึกษาแก่นักเรียนเรียนดีในหมู่บ้าน เป็นต้น ปัจจุบันโครงการพัฒนาชุมชนยังไม่ได้ดำเนินการอย่างเป็นรูปธรรม

5.4 กระบวนการเรียนรู้ในหมู่บ้าน การทำงานของคณะกรรมการท่องเที่ยวทำให้เกิดกระบวนการเรียนรู้ขึ้นในชุมชน เช่น การบริหารจัดการ บัญชี ภาษา การพัฒนาผลิตภัณฑ์ จารีตประเพณี การจัดการความขัดแย้ง และการฝึกอบรมผู้นำชุมชนรุ่นใหม่ ๆ

ตัวชี้วัดการพัฒนาดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่า การท่องเที่ยวเชิงนิเวศเป็นทางเลือกที่มีความเป็นไปได้สูงสำหรับใช้เป็นกรอบในการสร้างโอกาสเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน

***6. ปัญหา ข้อจำกัดและข้อเสนอแนะเชิงนโยบาย***

ในรอบทศวรรษที่ผ่านมา ประเทศไทยถูกวิจารณ์ว่าความสามารถในการแข่งขันด้านการผลิตลดลง ทำให้รัฐบาลหันมาดำเนินนโยบายส่งเสริมการท่องเที่ยวอย่างเต็มที่ พื้นที่ทั้งหมดของประเทศจึงกลายเป็นสินค้าสำหรับตอบสนองอุตสาหกรรมท่องเที่ยว คนภายนอกเข้าไปจัดการเปลี่ยนแปลงตามอำเภอใจ พื้นที่ป่าถูกเปลี่ยนจากไร่หมุนเวียนกลายเป็นสถานที่ท่องเที่ยว วิถีชีวิต และวัฒนธรรมท้องถิ่นถูกรื้อฟื้นหรือนำกลับมาใหม่ให้มีสถานะเป็นเพียงสินค้าหรือจุดขายแก่นักท่องเที่ยว แต่ชาวบ้านกลับได้รับผลตอบแทนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ปัจจุบันชาวบ้านและชุมชนถูกเรียกร้องจากสังคมและรัฐบาลให้ช่วยกันอนุรักษ์สภาพแวดล้อมให้คงสภาพเป็นธรรมชาติมากที่สุดเพื่อให้นักท่องเที่ยวมาดู แต่ขณะเดียวกันกลับไม่ได้รับความเป็นธรรม โดยเฉพาะการกระจายผลประโยชน์ ส่วนใหญ่จะเป็นของนักธุรกิจ โดยที่มีชาวบ้านเพียงไม่กี่คนเท่านั้นที่ได้รับค่าตอบแทนเพียงเล็กน้อย ดังนั้นประเด็นปัญหาความเป็นธรรมจึงเป็นปัจจัยสำคัญ ที่ช่วยสร้างหรือเพิ่มแรงจูงใจให้กับชาวบ้าน ให้รักษาสภาพแวดล้อมและวิถีชีวิต ซึ่งเป็นจุดขายต่อธุรกิจการท่องเที่ยว

การถูกจำกัดสิทธิการใช้ทรัพยากรทำให้กระบวนการทางสังคมและวัฒนธรรมหยุดชะงัก โดยที่ไม่มีผลตอบแทนอย่างเหมาะสมนั้น นอกจากจะเป็นการเอารัดเอาเปรียบยังก่อให้เกิดปัญหาการถูกลดคุณค่าความเป็นมนุษย์ คือ ชาวบ้านและวัฒนธรรมชุมชนถูกตีราคาประดุจเป็นสินค้าในตลาด บริษัทนำเที่ยวไม่ได้ให้ความสำคัญกับวิถีชีวิตชาวบ้านมากไปกว่าการมองเป็นจุดขาย ส่วนชาวบ้านก็ถูกจัดให้มีฐานะเสมือนเป็นพนักงานบริษัทที่ต้องเอาอกเอาใจ และทำตามความประสงค์ของเจ้าของกิจการเท่านั้น ไม่ได้เป็นเจ้าของบ้านที่พึงได้รับเกียรติตามฐานะ

ในปัจจุบัน กลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูงนอกจากจะประสบปัญหาเศรษฐกิจเพราะถูกจำกัดการใช้ทรัพยากร ยังเผชิญกับปัญหาสูญเสียอัตลักษณ์ของชาติพันธุ์หรือการดำรงอยู่อย่างมีศักดิ์ศรีด้วย แนวทางการพัฒนาสังคมอย่างยั่งยืน จึงต้องคำนึงถึงการจัดการทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพไม่ทำลายธรรมชาติแวดล้อม เปิดโอกาสให้กลุ่มชนต่าง ๆ สามารถจัดการกับวิถีชีวิตวัฒนธรรมของตนเอง ขณะเดียวกันต้องมีรายได้เพิ่มขึ้นอย่างเหมาะสมด้วย ภายใต้เงื่อนไขทางสังคม การท่องเที่ยวเชิงนิเวศ (Ecotourism) เป็นรูปแบบหนึ่งของทางเลือกการพัฒนาอย่างยั่งยืน ที่สร้างและเพิ่มแรงจูงใจให้ชาวบ้านรักษาสภาพแวดล้อมของชุมชนให้มีสภาพสมบูรณ์อยู่เสมอ ช่วยยกระดับฐานะความเป็นอยู่ และอำนาจต่อรองของชาวบ้านให้สูงขึ้น

ประสบการณ์ในการบริหารจัดการท่องเที่ยวเป็นกระบวนการเรียนรู้ที่ช่วยให้ชาวบ้านสามารถจัดการทรัพยากรและนำความรู้ไปสู่การพัฒนานาตนเองต่อไปได้ด้วย เช่น เรียนรู้วิธีการดูแลพันธุ์สัตว์ต่างๆ การอนุรักษ์ และเพาะพันธุ์พืช (พืชอาหาร สมุนไพร กล้วยไม้ และพันธุ์ไม้ต่าง ๆ) วิธีการอนุรักษ์แหล่งท่องเที่ยวธรรมชาติ (ถ้ำ น้ำตก) เพราะในการบริหารจัดการท่องเที่ยว จะมีผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านมาฝึกอบรมให้ความรู้ และทดลองปฏิบัติจริงตามความเหมาะสม

ตลอดระยะเวลาสิบกว่าปีที่ผ่านมา กลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ในจังหวัดแม่ฮ่องสอนมีสถานะเป็น "หมู่บ้านที่ถูกท่องเที่ยว" มากกว่า "หมู่บ้านท่องเที่ยว" บริษัทนำเที่ยวและมัคคุเทศก์มองบ้านชาวเขาในฐานะเป็นสถานที่ท่องเที่ยว และจะอ้างถึงคุณประโยชน์ว่าเป็นภาคธุรกิจที่สร้างรายได้แก่ประเทศมากเป็นอันดับต้นๆ สภาพแวดล้อมธรรมชาติและชีวิตวัฒนธรรมของชาวบ้านจึงมองเป็นเพียงพื้นที่สาธารณะ ที่ต้องบริการแก่นักท่องเที่ยวอย่างเต็มที่ เพราะไม่เช่นนั้นจะขัดขวางการทำรายได้เข้าประเทศ ซึ่งร้ายแรงไม่น้อยกว่าการเป็นผู้ทำลายสภาพแวดล้อม และเกี่ยวข้องกับยาเสพติดในอดีต

ภายใต้เงื่อนไขดังกล่าวรวมกับการที่ต้องเผชิญกับปัญหาเศรษฐกิจที่บีบรัดมากขึ้น การถูกจำกัดการใช้ที่ดินบนภูเขา ด้วยเหตุผลด้านการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมของรัฐเป็นเหตุให้ชาวบ้านส่วนใหญ่ต้องปรับเปลี่ยนวิธีเพาะปลูกจากเดิมมาปลูกพืชเงินสดตามความต้องการของตลาดพื้นราบ

ทำให้ชาวบ้านต้องพึ่งพาเงินทุน และเทคโนโลยีจากภายนอกแทบทั้งหมด การติดต่อกับตลาดทำให้ชาวบ้านต้องการบริโภคสินค้าใหม่ๆ เพิ่มขึ้นด้วย การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้ต้องแสวงหาเงินมาใช้จ่ายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ชาวบ้านต้องแปรสภาพจากผู้ผลิตกลายเป็นผู้บริโภค

การที่เงินกลายเป็นเงื่อนไขหลักของการมีชีวิตสมัยใหม่ ส่งผลให้เมื่อมีการท่องเที่ยวในหมู่บ้าน ชาวบ้านต้องอยู่ใต้บงการของมัคคุเทศก์ และบริษัทนำเที่ยว จนไม่มีอำนาจต่อรองใดๆ ต้องทำตามความต้องการของนักท่องเที่ยว และ

บริษัทนำเที่ยว เพื่อให้มีรายได้ การที่มัคคุเทศก์มีอำนาจต่อรอง ทำให้ชาวบ้านถูกบริษัทนำเที่ยวเอาเปรียบด้วยการจ่ายค่าตอบแทนไม่มากนัก ทั้งๆ ที่รู้ว่ามัคคุเทศก์ได้รับผลตอบแทนมาก เพราะเกรงว่าหากทำให้มัคคุเทศก์ไม่พอใจ จะทำให้นักท่องเที่ยวไม่เข้ามาในหมู่บ้าน ซึ่งเป็นการสูญเสียรายได้

การที่ทางจังหวัดแม่ฮ่องสอนได้ริเริ่มจัดทำโครงการวิจัยการท่องเที่ยวเชิงนิเวศนี้ ก็เพื่อมาแก้ปัญหานี้ด้วยเช่นกัน หลังจากที่ชาวบ้านได้ร่วมประชุมหารือ และให้ความรู้เรื่องการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ว่าเป็นทางเลือกใหม่ที่จะไม่ให้เกิดการเอารัดเอาเปรียบ พบว่าชาวบ้านเห็นด้วย และยินดีที่จะเรียนรู้สิ่งใหม่ผ่านการบริหารจัดการที่เน้นให้ชาวบ้านรวมกลุ่มกันบริหารกันเอง โดยมีคณะวิจัยมาร่วมเรียนรู้ ติดต่อประสานงาน เพื่อแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาของการเตรียมตัว และเริ่มกิจการในอนาคต

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์สำคัญในการจุดประกายกระบวนการเรียนรู้ของชุมชน ให้สามารถบริหารจัดการการท่องเที่ยวด้วยตนเอง โดยการจัดตั้งคณะกรรมการขึ้น อีกทั้งเป็นการกระตุ้นให้ชาวบ้านตระหนักในคุณค่าของธรรมชาติแวดล้อม ความมีอัตลักษณ์และศักดิ์ศรีของกลุ่ม ตลอดจนรู้จักปรับใช้ภูมิปัญญาท้องถิ่นอย่างมีศักยภาพ ไม่ถูกครอบงำจากภายนอกอย่างสิ้นเชิง

โครงการวิจัยได้ให้ความสำคัญกับการมีส่วนร่วมของชาวบ้านและชุมชน ตั้งแต่การวางแผน การจัดเตรียมชุมชน โดยมีการตัดสินใจร่วมกันว่าจะเลือกสรรวัฒนธรรม และสภาพธรรมชาติใดบ้าง ให้นักท่องเที่ยวมาเที่ยวชมและมีการจัดสรรผลประโยชน์อย่างเป็นธรรม

บทบาทของนักวิจัย คือ การเปิดเวทีเพื่อให้เกิดการเรียนรู้ร่วมกัน เพื่อให้ชุมชนทำความเข้าใจกับปัญหา และความต้องการของตนเองอย่างแท้จริง อีกทั้งค้นหาศักยภาพที่แท้จริงของชุมชน เพื่อจะได้ส่งเสริมให้องค์กรชาวบ้านได้เรียนรู้ พัฒนาขีดความสามารถของตนเอง ในการบริหารจัดการการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ อย่างไรก็ตาม การจัดการท่องเที่ยวเชิงนิเวศยังเป็นประเด็นใหม่ที่มีการศึกษาวิจัยค่อนข้างน้อย ในโครงการนี้ พบว่าปัญหาและอุปสรรคสำคัญของการจัดการนั้นมีอยู่ 3 ประการ คือ

1. ปัญหาและข้อจำกัดในระดับพื้นที่ โดยเฉพาะปัญหาการขาดความเชื่อมั่นของชาวบ้าน ความแตกแยกขัดแย้งของชุมชน ความด้อยประสิทธิภาพของผู้นำและองค์กรชุมชนในการบริการจัดการ และการขาดเครือข่ายของชุมชนในละแวกใกล้เคียงในการบริหารจัดการทรัพยากร และการท่องเที่ยวร่วมกัน ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้หากได้รับการส่งเสริมจากภายนอก โดยเฉพาะจากนักวิชาการ องค์กรพัฒนาเอกชน และหน่วยงานของรัฐ จัดเวทีเพื่อแลกเปลี่ยนประสบการณ์และกระบวนการเรียนรู้ระหว่างชุมชนต่างๆ อีกทั้งเปิดโอกาสให้ชุมชนพัฒนาศักยภาพในการจัดการทรัพยากร การจัดการท่องเที่ยว เพื่อพัฒนาประสบการณ์ ความรู้ และความมั่นใจในตนเอง

2. การประสานงานจากรัฐ การขาดนโยบายส่งเสริมอย่างชัดเจนจากหน่วยงานของรัฐ ไม่ว่าจะเป็นการท่องเที่ยวแห่งประเทศไทย และหน่วยงานต่างๆ ของกระทรวงมหาดไทย กระทรวงแรงงานและสวัสดิการสังคมซึ่งรับผิดชอบดูแลชีวิตความเป็นอยู่ของกลุ่มชาติพันธุ์บนที่สูง การที่ประชาชนขาดการมีส่วนร่วมในการวางแผนการท่องเที่ยว ทำให้เกิดปัญหาความขัดแย้งในจังหวัดแม่ฮ่องสอน การค้ายาเสพติด สัญชาติ และการขาดสิทธิในการจัดการทรัพยากร เป็นอุปสรรคสำคัญทำให้ชุมชนต่างๆ ไม่สามารถพัฒนาศักยภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

3. การประสานงานจากผู้ประกอบการภาคเอกชน ขาดการประสานงานกับผู้ประกอบการธุรกิจนำเที่ยวทั้งในระดับท้องถิ่น และระดับประเทศ บริษัทรถเช่า โรงแรม ธุรกิจบ้านพัก เป็นต้น ผู้ประกอบการหลายส่วนยังเข้าใจเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในลักษณะคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง และมีทัศนคติไม่ดีกับการจัดการท่องเที่ยวของชาวบ้าน โดยเฉพาะมองว่าการจัดของชาวบ้านเป็นการเข้ามาแข่งขันลดราคาโปรแกรมทัวร์กับบริษัทนำเที่ยว ทำให้บริษัทเอกชนสูญเสียผลประโยชน์ ความสัมพันธ์เชิงอำนาจและผลประโยชน์ที่เคยเหลื่อมล้ำกันอย่างมากระหว่างบริษัทนำเที่ยวกับชาวบ้าน ทำให้ไกด์นำเที่ยวและภาคเอกชนบางรายมองว่าการส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเป็นการท้าทายอำนาจและผลประโยชน์ของภาคเอกชนโดยตรง

การแก้ไขปัญหาดังกล่าวจึงจำเป็นต้องได้รับการประสานงานจากหน่วยงานของรัฐ โดยเฉพาะจากทางจังหวัดและการท่องเที่ยวแห่งประเทศไทย เพื่อจัดเวทีพูดคุยแลกเปลี่ยนความเห็น สร้างความเข้าใจให้ถูกต้องสำหรับทุกฝ่าย

ในกรณีของจังหวัดแม่ฮ่องสอนทางโครงการ ฯ ได้เคยจัดเวทีแลกเปลี่ยนกับชมรมธุรกิจนำเที่ยวจังหวัดแม่ฮ่องสอนมาแล้วหนึ่งครั้ง พบว่าปัญหาความไม่เข้าใจสามารถแก้ไขได้หากมีการพูดคุยกันอย่างต่อเนื่อง และมีการประสานผลประโยชน์อย่างเป็นธรรม

**ข้อเสนอแนะเชิงนโยบาย**

จากปัญหาและอุปสรรคดังกล่าวข้างต้น ทางโครงการ ฯ มีข้อเสนอแนะเชิงนโยบายที่สำคัญ ๆ ดังต่อไปนี้

1) นโยบายการท่องเที่ยวของประเทศไทย ควรให้ความสำคัญกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศอย่างชัดเจน และเป็นรูปธรรม โดยคำนึงถึงประเด็นต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- ส่งเสริมให้ชุมชนท้องถิ่นมีส่วนร่วมในการวางแผนการจัดการท่องเที่ยว และได้รับประโยชน์จากการท่องเที่ยวทั้งทางตรง และทางอ้อม
- ส่งเสริม พัฒนาทรัพยากรท่องเที่ยวประเภทธรรมชาติ ประวัติศาสตร์ โบราณคดี และวัฒนธรรม โดยเน้นให้เกิดกระบวนการเรียนรู้ มีระบบการสื่อสารที่ดี ให้ความสำคัญกับขีดความสามารถในการรองรับนักท่องเที่ยว
- สร้างจิตสำนึกด้านการท่องเที่ยวโดยมุ่งให้เกิดการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ และการเรียนรู้เกี่ยวกับความสมดุลของระบบนิเวศเป็นสำคัญ
- มีการวางแผน ปรับปรุงพัฒนาองค์กรการจัดการด้านการพัฒนาการท่องเที่ยวให้มีประสิทธิภาพ ปรับปรุงกฎระเบียบ การประสานงานระหว่างภาครัฐ ภาคเอกชน และชุมชนท้องถิ่น
- ส่งเสริมการตลาดท่องเที่ยวเชิงนิเวศที่เหมาะสมกับสภาพของพื้นที่ และขีดความสามารถในการรองรับของพื้นที่

2) ควรมีการกระจายอำนาจการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ โดยเปิดโอกาสให้ชุมชนท้องถิ่นมีสิทธิในการจัดการทรัพยากร เช่น ออกพระราชบัญญัติป่าชุมชน เป็นต้น ปรับบทบาทของรัฐและองค์กรของรัฐทุกระดับ ให้ยอมรับและร่วมมือกับชุมชนในการจัดการทรัพยากร เพื่อให้ชุมชนท่องเที่ยวเชิงนิเวศแต่ละแห่งสามารถวางแผนระบบการจัดการทรัพยากร มีการมอบอำนาจให้องค์กรชุมชนเพื่อทำหน้าที่ควบคุม และดูแลการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรตามแผนงาน และมาตรการที่กำหนดโดยองค์กรชุมชน โดยหน่วยงานของรัฐทำหน้าที่กำกับดูแล ส่งเสริมทางด้านเทคนิคและเงินทุน

3) หน่วยงานของรัฐโดยทางกระทรวงมหาดไทยและจังหวัด ควรพัฒนาระบบตรวจสอบและพิจารณาการให้สัญชาติแก่ประชาชนบนที่สูงอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้ชุมชนมีความมั่นใจในสิทธิในฐานะพลเมืองไทย และได้รับโอกาสตามสมควรแก่สิทธินั้น

4) ควรจัดเวทีแลกเปลี่ยนการเรียนรู้ให้กับชุมชนอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการอบรมในเรื่องของระบบนิเวศของป่า ถ้ำ ความหลากหลายทางชีวภาพ เช่น ต้นไม้ เฟิร์น กล้วยไม้ โป่งและสัตว์ป่า เพื่อให้ชุมชนพัฒนาศักยภาพในการเรียนรู้ สื่อสารกับนักท่องเที่ยวได้อย่างเป็นระบบ และมีประสิทธิภาพ

5) ควรส่งเสริมให้องค์กรพัฒนาเอกชนเข้ามามีบทบาทในด้านการประสานงานระหว่างชุมชน ระหว่างท้องถิ่นกับภาคเอกชนและหน่วยงานของรัฐ เพื่อสร้างเครือข่ายของชุมชนให้กว้างขวาง ครอบคลุมพื้นที่ในระดับจังหวัดและภูมิภาค

6) ควรส่งเสริมให้มีการทำงานวิจัยในด้านของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเพิ่มขึ้นมากกว่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน

**กิตติกรรมประกาศ**

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้ และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 341003

## เอกสารอ้างอิง


ปุสตี อาคมานนท์ และคณะ. 2535. โครงการศึกษาผลกระทบการท่องเที่ยวเดินป่า คณะสังคมศาสตร์และมนุษยศาสตร์.

Blank, U. 1989. The Community Tourism Industry Imperative: The Necessity, the Opportunities, Its Potential. New York: Venture Publishing.

Bornemeier, J. et al. (eds.). 1997. Ecotourism For Forest Conservation and Community Development. Proceedings of an International Seminar held in Chiang Mai, January 28-31, 1997, Bangkok.

Cater, E. 1997. Ecotourism: Dimensions of Sustainability. *In* Bornemeier et al. (eds.), Ecotourism For Forest Conservation and Community Development. Proceedings of an International Seminar held in Chiang Mai, January 28-31, 1997, Bangkok.

Crick, M. 1985. Tracing the Anthropological Self: Quizzical Reflections on Field Work, Tourism, and the Ludic. *Social Analysis* 17: 71-92.

Dearden, P. 1993. Trekking in Northern Thailand. Proceedings of the 5th International Conference on Thai Studies, SOAS, London.

Durst, P.B. 1987. Natural History and Nature-Oriented Adventure Travel for Rural Development and Wildlands Management: Diagnosis of Research Needs and Project Opportunities for Thailand. Southeastern Center for Forest Economics Research, Forest-Private Enterprise Initiative Working Paper No. 12. Research Triangle Park. N.C.

Greenwood, D.J. 1977. Culture by the Pound: An Anthropological Perspective on Tourism as Cultural Commodification. *In* Smith, V.L. (ed.), Hosts and Guests: The Anthropology of Tourism, University of Pennsylvania Press, Philadelphia.

Hall, C.M. and A.A. Lew. 1998. Sustainable Tourism: A Geographical Perspective. *In* Harron, S.G. (ed.), Trekking Among the Hill Tribes of Northern Thailand: Analyzing an Alternative Tourism Segment, M.A. Thesis, Department of Geography, University of Victoria, Longman, New York.

Judd, L.C. 1988. In Perspective: Trends in Rural Development, Policy and Programmes in Thailand 1947-1987. Chiangmai: Payap University Center for Research and Development. Research Report No. 41.

Linberg, K., J. Enriquez and K. Sproule. 1995. Does Ecotourism Achieve Conservation and Development Objectives. Annals of Tourism Research.

MacCannell, D. 1976. The Tourist: A New Theory of the Leisure Class. Schocken. New York.

McCool, S. F. 1994. Linking Tourism, the Environment and Concepts of Sustainability: Setting the Stage. Proceedings of the Annual Meeting of the National Recreation and Park Association, October 12-14, 1994, Minneapolis.

McIntosh, R.W. and C.R. Goeldner. 1986. Tourism: Principles, Practices, Philosophies. John Wiley. New York.

Mirante, E.T. 1990. Hostages to Tourism. *Cultural Survival Quarterly* 14: 35-38.

Murphy, P. 1985. Tourism: A Community Approach. Methuen. New York.

Nash, D. 1977. Tourism as a Form of Imperialism. *In* Smith V.L., (ed.), Hosts and Guests: The Anthropology of Tourism. University of Pennsylvania Press. Philadelphia.

Parnwell, M.J.B. 1993. Environmental issues and tourism in Thailand. *In* Hitchcock, M., V.T. King and M.J.G. Parnwell, (eds.), Tourism in Southeast-Asia. Routledge. New York.

Pleumarom, A. 1994. The Political Economy of Tourism. *The Ecologist* 24(4): 142-148.

Pleumarom, A. 1997. Open Questions Concerning the Concept, Policies and Practices of Ecotourism. *In* Bornemeier et al. (eds.), Ecotourism For Forest Conservation and Community Development. Proceedings of an International Seminar held in Chiang Mai, January 28-31, 1997, Bangkok.

Wood, R.E. 1993. Tourism, culture and the sociology of development. *In* Hitchcock, M., V.T. King and M.J.G. Parnwell, (eds.), Tourism in Southeast-Asia. Routledge. New York.

Santasombat, Y. 1998. Buddhist Cultural Tradition and the Politics of National Identity in Thailand. *In* Dominguez, V.R. and D.Y.H. Wu, (eds.), From Beijing to Port Moresby: The Politics of National Identity in Cultural Policies. Gordon and Breach.

# การสำรวจกล้วยไม้ป่าและวิจัยเพื่อพัฒนาการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ ในเขต อ.เมือง และ อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน

**จิตราพรรณ พิลึก[1], ปราโมทย์ ไตรบุญ[2], ชูเกียรติ เทพสาร[3] และดิเรก ตนพยอม[4]**

[1]ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[2]พิพิธภัณฑ์พืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[3]ศูนย์ศึกษาและบริการลุ่มน้ำปาย (ท่าโป่งแดง) อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน 58000

[4]ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50000

**Abstract: Investigation of Wild Orchids and Research for Development of Ecotourism in Muang and Pangmapa District, Maehongson Province**

Maehongson, the beautiful province of hills, with a biodiversity of attractive plants especially orchids, is situated near the Myanmar border northwest of Chiangmai. It is the best place for biological conservation and for admiring wild orchids. Research work on wild orchid conservation would be beneficial for local villagers in earning income from ecotourism. This project has resulted in co-operative work between researchers and villagers at Ban Huay Hi, Ban Huay Suatao in Muang district as at well as Ban Tamlod in Pangmapa district. Biological surveys of wild orchids were made in fertile tropical rain forests accompanied by the mentioned villagers. Project activities have taken place with heartful collaboration of the hill tribes. Orchids of 172 species in 61 genera were collected and identified. Most of them were epiphytes and their flowering seasons were recorded to be from January-May. Local villagers and researchers agreed on trails with many wild orchids that would make good on the way for tourist attractions. For sustainable conservation, formulation of easy-to-do aseptic media for seed culture was researched. The germination medium, BRT1, contained orchid fertilizer, vitamins, table sugar, banana and agar. In addition the transflask medium, BRT2, was prepared by adding 50 g blended potato into the germination medium. Both media gave good seed germination and seedling development of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. as compared to a modified Vacin-Went medium. This technical-knowhow will be transfered to villagers so that they they can propagate orchids. Practical training on seedling care was provided to villagers. Large sized 6-monthold seedlings of *Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridley in flasks, were grown at the homes of co-workers in the villages. After having experience, ten thousand seedlings of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl., developed from seeds collected from Maehongson forest, were transplanted and nursed at the residences of the villagers. The seedlings thrived in their environment. Vigorous seedlings were chosen to attach to the forest plants along the tourist trail to hopefully make a flower attraction.

**Key words:** wild orchids, seed propagation, ecotourism

## บทนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งกำเนิดที่สำคัญของกล้วยไม้ป่าเขตร้อน สำรวจพบและจำแนกกล้วยไม้ได้ 999 ชนิด 145 สกุล เป็นกล้วยไม้ป่าที่พบทางภาคเหนือ รวม 597 ชนิด 118 สกุล (Seidenfaden, 1982) และสำรวจพบเพิ่ม 1,140 ชนิด 167 สกุล ในปี พ.ศ. 2540 (ฝ่ายวิชาการ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์, 2540) การพบกล้วยไม้ป่าทางภาคเหนือจำนวนมากนั้น เพราะมีสภาพภูมิประเทศและอากาศเหมาะแก่การเจริญเติบโต กล้วยไม้ป่าจำนวนมากที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน ส่วนใหญ่มีดอกสวยงาม หลายชนิดมีกลิ่นหอม ออกดอกในฤดูที่ต่างกัน เช่น เอื้องแซะหลวง ดอกบานในเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ เอื้องคำ เอื้องผึ้ง บานในช่วงฤดูร้อน ไอยเรศหรือหางกระรอก บานในช่วงปลายฤดูร้อนต่อต้นฝน ฟ้ามุ่ย บานในช่วงฤดูหนาว ในปี พ.ศ. 2537 มีการส่งออกต้นเอื้องคำ 24,137 ต้น เอื้องผึ้ง 25,219 ต้น ทั้งหมดเก็บจากป่า (CITES Thailand Annual Report, 1993) มีการห้ามส่งออกต้นกล้วยไม้ที่เก็บจากป่าตั้งแต่ปี 2541 แต่ยังมีวางขายเสมอ ทำให้ปริมาณลดลง ดังนั้น จึงควรอนุรักษ์ต้นที่เหลือให้คงอยู่ในป่า และขยายพันธุ์ต้นที่มีดอกสวยงามและใกล้สูญพันธุ์

ฝักกล้วยไม้แต่ละฝักมีเมล็ดจำนวนมากถึงหลายล้านเมล็ด อยู่ในฝักที่มีขนาดเท่านิ้วก้อย เมล็ดมีขนาดเล็กมาก มองด้วยตาเปล่าไม่ชัดเจน เช่น เมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายมีขนาด 300-500 μm เมล็ดมีเปลือกบางๆ หุ้มเอ็มบริโอ

(embryo) ไม่มีอาหารสะสม (Dressler, 1993) ตามธรรมชาติ เมล็ดจากแต่ละฝักจะงอกเพียงไม่กี่ต้น โดยเมล็ดแก่จะร่วงจากฝักลงสู่บริเวณรากของต้นแม่ ได้อาหารจากเชื้อราไมโครไรซา ซึ่งอยู่บริเวณรากของต้นแม่เพื่อช่วยในการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า ดังนั้น การนำเมล็ดมาเพาะโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อบนวุ้นอาหาร จะได้ต้นอ่อนจำนวนมาก นับแสนต้น ขึ้นกับชนิดพันธุ์ ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้อย่างรวดเร็ว (จิตราพรรณ, 2538)

อาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้ามี 3 ประเภท คือ 1) ธาตุอาหารหรือเกลือแร่ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต เช่น เกลือโพแทสเซียมไนเตรท เกลือแอมโมเนียมไนเตรท 2) สารให้พลังงาน เพื่อใช้ในการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้า เช่น น้ำตาลทราย sucrose glucose และ 3) สารช่วยในการเจริญเติบโต ได้แก่ อินทรียสาร เช่น น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม มันฝรั่ง นอกจากนั้น พบว่าวิตามิน เช่น Ascorbic acid (Vitamin C) ช่วยการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า Cattleya และ Oncidium สำหรับ Niacin และ Pyridoxin ช่วยการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้หลายชนิด (Arditti, 1977)

สูตรอาหารที่เหมาะกับการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า คือ อาหารดัดแปลงจากสูตร Vacin-Went (Vacin and Went, 1949) ซึ่งประกอบด้วยสารเคมี หรือเกลือแร่ 7 ชนิด น้ำตาลทราย และดัดแปลงโดยเพิ่มอินทรียสาร 3 ขนิด คือ น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม และมันฝรั่ง (ระพี, 2516; จิตราพรรณ, 2536) ยกเว้นกล้วยไม้ในสกุลรองเท้านารี ที่เมล็ดงอกและต้นอ่อนพัฒนาได้ดี ในสูตรที่เพิ่มน้ำมะพร้าวอ่อน เห็ดหูหนู และเนื้อมะเขือเทศ (จิตราพรรณ, 2536) แต่ถึงแม้เมล็ดกล้วยไม้ป่าจะงอกจำนวนมาก และต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดี แต่หลังจากนำต้นออกปลูกในโรงเรือน ต้นกล้าจะตายได้ง่ายถ้าอ่อนแอหรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ดังนั้นสูตรอาหาร และวิธีการเลี้ยงต้นกล้าให้มีขนาดใหญ่และแข็งแรงในสภาพปลอดเชื้อก่อนนำออกปลูกจึงสำคัญมาก

บทความนี้เป็นการนำเสนองานวิจัย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อร่วมมือกับชาวบ้านใน 3 หมู่บ้าน ได้แก่ หมู่บ้านห้วยฮี้ หมู่บ้านห้วยเสือเฒ่า อ.เมือง และหมู่บ้านถ้ำลอด อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน สำรวจและจำแนกชนิดพันธุ์กล้วยไม้ป่า จัดแสดงนิเวศวิทยาของกล้วยไม้ป่าในบริเวณเส้นทางเที่ยวป่า ส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอื้องคำ

## ผลการวิจัย

### *ชนิดกล้วยไม้ป่าที่สำรวจพบ*

คณะนักวิจัยได้สำรวจปีละ 6 ครั้ง เข้าป่าร่วมกับตัวแทนชาวบ้าน หมู่บ้านละ 2 คน หรือมากกว่าเมื่อชาวบ้านในโครงการเฟิร์นร่วมเดินทางไปด้วย พบว่าป่ารอบหมู่บ้านทั้ง 3 มีความสมบูรณ์ คณะนักวิจัยได้แนะนำให้ชาวบ้านรู้จักชนิดกล้วยไม้ป่า ลักษณะการเจริญเติบโตร่วมกับต้นไม้ใหญ่ สิ่งแวดล้อม การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าในป่า เพื่อให้ชาวบ้านผูกพันกับวิถีชีวิตของต้นกล้วยไม้ป่า จากการสำรวจ พบกล้วยไม้ป่าจำนวนมากที่สุดที่บ้านห้วยฮี้ จำแนกได้ 125 ชนิด ไม่ได้ 12 ชนิด บ้านถ้ำลอด จำแนกได้ 62 ชนิด ไม่ได้ 8 ชนิด และบ้านห้วยเสือเฒ่า จำแนกได้ 34 ชนิด ไม่ได้ 1 ชนิด มีบางชนิดพบในป่าทั้ง 3 หมู่บ้าน สรุปพบต้นกล้วยไม้ป่ารวมทั้งหมด 61 สกุล จำแนกได้ 151 ชนิด และจำแนกไม่ได้ 21 ชนิด (ตารางที่ 1) พบว่ามีกล้วยไม้ป่า 20 ชนิด ที่ไม่พบตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์พืชในไทย ทางโครงการได้รวบรวมตัวอย่างไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร นอกจากนั้นยังพบอีก 13 ชนิด ที่ไม่เคยมีรายงานว่าสำรวจพบใน จ.แม่ฮ่องสอน ชนิดกล้วยไม้ที่พบจำแนกตามแหล่งที่ได้ดังนี้

ตารางที่ 1. จำนวนชนิดกล้วยไม้ป่าที่สำรวจพบในแต่ละหมู่บ้าน

| หมู่บ้าน | จำนวนกล้วยไม้ที่สำรวจพบ | | |
|---|---|---|---|
| | สกุล (genus) | ชนิด (species) | |
| | | จำแนกได้ | จำแนกไม่ได้ |
| บ้านห้วยฮี้ | 53 | 125 | 12 |
| บ้านห้วยเสือเฒ่า | 22 | 34 | 1 |
| บ้านถ้ำลอด | 31 | 62 | 8 |
| สำรวจพบทั้งหมด | 61 | 151 | 21 |

1. กล้วยไม้ดิน พบขึ้นตามพื้นป่า

1.1 ชนิดที่มีหัว หรือเหง้าใต้ดิน ผลิใบและช่อดอกในช่วงฤดูฝน บางชนิดออกดอกพร้อมต้นกระเจียวช่วงต้นฝนแล้วจึงผลิใบ บางชนิดออกใบก่อนแล้วจึงออกดอกช่วง

กลางหรือปลายฝน เช่น เอื้องเหลี่ยม (*Calanthe cardioglossa* Schtr.) ว่านดิน (*Eulophia spectabilis* (Dennst.) Suresh.) ลิ้นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance) ว่านนางตาม (*Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston) นางอั้ว (*Pecteilis*) เอื้องดินลาว (*Spathoglottis pubescens* Lindl.) สกุล *Cheirostylis, Zeuzine*, *Liparis* และต้น *Goodyera procera* (Ker-Gawl.) Hk.f. พบริมลำธาร มีเหง้ากลม ยาว อยู่ใต้ดิน ใบสีเขียว เรียวยาว คล้ายต้นหญ้า

1.2 ชนิดที่มีใบลายสวย พบในป่าที่ค่อนข้างร่มและชื้น มีอินทรีย์วัตถุปกคลุมค่อนข้างหนา ได้แก่ สกุล *Malaxis,* หัวบัวเดี่ยว (*Nervilia*) และ *Cheirostylis*

2. รองเท้านารี พบ 2 ชนิด คือ รองเท้านารีอินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Pfitz.) พบขึ้นบนต้นไม้ที่บ้านห้วยฮี้ และรองเท้านารีฝาหอย (*Paphiopedilum bellatulum* Pfitz.) พบขึ้นอยู่ตามรอยแตกของหินปูนบนเขา ที่บ้านถ้ำลอด

3. กล้วยไม้รากอากาศ พบขึ้นบนต้นไม้

3.1 พวกที่เจริญเติบโตเป็นกอ (sympodial growth) พบมากในสกุลหวาย (*Dendrobium*) รวม 36 ชนิด ส่วนมากมีดอกขนาดใหญ่ สีสด เช่น เอื้องคำ เอื้องผึ้ง เอื้องแซะหลวง เอื้องครั่ง เอื้องช้างน้าว เอื้องม่อนไข่ เอื้องคำกิ่ว เอื้องเก๊ากิ่ว แววมยุรา สกุลที่พบรองลงมา คือ สิงโตกลอกตา (*Bulbophyllum* ) พบ 20 ชนิด สกุลเอื้องบายศรี (*Eria*) พบ 9 ชนิด สิงโตสมอหิน (*Coelogyne) พบ 5 ชนิด* และสกุลอื่นที่พบอีก คือ นมหนู (*Acriopsis*) *Flickingeria* สร้อยระย้า *(Otochilus)* เอื้องต่อ *(Pholidota) Polystachya, Rhytionantos, Sunipia, Thelasis,* เศวตสอดสี (*Thunia alba*(Lindl.) Rchb.f.), *Trias* และ *Trichotosia* ส่วนมากพบขึ้นบนต้นไม้ มีบางชนิดที่พบทั้งบนต้นไม้และเกาะบนโขดหิน

3.2 พวกที่เจริญเติบโตเป็นต้นเดี่ยว (monopodial growth) พบขึ้นบนต้นไม้ รวม 22 สกุล พบสกุลแวนด้า (*Vanda*) 5 ชนิด เช่น ฟ้ามุ่ย (*Vanda coerulea* Griff.) เข็มเหลือง (*Vanda testacea* (Lindl. Rchb.f.)) สกุลเอื้องกุหลาบ (*Aerides*) พบ 5 ชนิด และสกุลอื่นๆ เช่น สกุลเข็ม (*Ascocentrum*) พญาไร้ใบ (*Chiloschista*) เอื้องนางรุ้ง (*Hygrochilus parishii* (Veitch & Rchb. f.) Pfitz.) เอื้องโมก (*Papilionanthe teres* (Roxb.) Schltr.) เสือโคร่ง (*Staurochilus fasciatus* (Rchb. f.) Ridl.) เสือดำ (*Gastrochilus bellinus*(Rchb. f.) Kze.) มังกรทอง (*Ornithochilus difformis* (Wall. ex Lindl) Schltr.) เอื้องจิ๋ว (*Schoenorchis seidenfadenii* Pradhan) พบ 2 ชนิดที่ขึ้นอยู่บนโขดหิน คือ ช้างสารภี (*Acampe rigida* (Buck.-Ham.) P.F. Hunt) ซึ่งต้นมีขนาดใหญ่ ใบหนา รับแสงแดดเต็มที่ อยู่บนภูเขาหินปูนที่บ้านถ้ำลอด และเอื้องกุหลาบแดง (*Aerides crassifolia* Par. & Rchb.f.) กอใหญ่ รากเกาะแน่นบนหน้าผาที่บ้านห้วยฮี้

***การจัดการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์***

บ้านห้วยฮี้ เป็นหมู่บ้านที่มีความพร้อมในการจัดการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ตั้งแต่ปี พ.ศ.2539 มีคณะกรรมการฝ่ายการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ บ้านทุกหลังมีห้องพักสำหรับนักท่องเที่ยว กรรมการหมู่บ้านจัดลำดับให้สมาชิกในหมู่บ้านบริการนักท่องเที่ยวเรื่องการนำทางและที่พัก เพื่อให้ทุกคนในหมู่บ้านมีรายได้เท่ากัน มีเส้นทางท่องเที่ยวเดินสู่ดอยปุยที่มีระดับความสูง 1,645 เมตร และเส้นทางเดินเท้าตามแนวถนนที่ผ่านป่า ซึ่งมีพันธุ์ไม้หลากหลายชนิด

บ้านห้วยเสือเฒ่า เป็นหมู่บ้านที่นักท่องเที่ยวนิยมแวะมาจำนวนมาก เพื่อเข้าชมหมู่บ้านกระเหรี่ยงคอยาว การคมนาคมสะดวก สามารถเดินทางเข้าหมู่บ้านได้โดยรถยนต์ ไม่ห่างจากตัวเมืองมากนัก ผ่านศูนย์ศึกษาและบริการลุ่มน้ำปาย หลังหมู่บ้านเป็นป่ามีต้นไม้ใหญ่ พบกล้วยไม้ป่าจำนวนมาก แต่ขาดการสนับสนุนให้มีการจัดทัวร์ป่า ดังนั้นจึงมีนักท่องเที่ยวจำนวนน้อยมากที่จะเดินป่าบริเวณห้วยเสือเฒ่า

บ้านถ้ำลอด มีนักท่องเที่ยวจำนวนมากเดินทางเข้าชมถ้ำลอด ซึ่งอยู่ไม่ไกลหมู่บ้าน มีคณะกรรมการหมู่บ้านจัดกิจกรรมพานักท่องเที่ยวเข้าชมถ้ำลอด แม่บ้านเป็นผู้ถือตะเกียงนำทางนักท่องเที่ยวและบรรยายขณะเข้าชมถ้ำ พ่อบ้านเป็นผู้ลากแพล่องตามลำน้ำในถ้ำ เมื่อชมถ้ำแล้วนักท่องเที่ยวอาจนั่งแพกลับโดยเสียค่าใช้จ่ายเท่าขามา หรือเดินกลับทางหลังถ้ำ มีเส้นทางเดินป่า 3 เส้นทางที่คณะนักวิจัยเข้าสำรวจ เส้นทางแรกอยู่ด้านหลังถ้ำ และมีโป่งชื่อโป่งป่วย มีสัตว์ป่าจำนวนน้อยแวะมา แต่มีนกจำนวนมาก เส้นทางนี้จะได้ชมทั้งกล้วยไม้และนก เส้นทางที่ 2 ต้องเดินขึ้นเขา เป็นป่าผลัดใบบนภูเขาที่ลาดชัน มีต้นกล้วยไม้จำนวนมาก เส้นทางนี้มีทัวร์ป่าพานักท่องเที่ยวเดินเลียบชายแดนไทย-เมียนมาร์ ส่วนใหญ่เป็นนักท่องเที่ยวชาวต่างประเทศที่บริษัททัวร์เป็นผู้จัด และเส้นทางที่ 3 อยู่บริเวณ

ทางเข้าถ้ำลอด เป็นภูเขาหินปูนที่ต้องปีนป่ายขึ้นไป มีโขดหินรูปร่างแปลกตาและงดงาม มีถ้ำเล็กๆ พบต้นกล้วยไม้ตลอดเส้นทาง และพบต้นกล้วยไม้ดินหลายชนิดในฤดูฝน

ทุกหมู่บ้านมีเส้นทางเดิมที่ชาวบ้านใช้เดินป่าเป็นประจำ ดังนั้นคณะนักวิจัยจึงปรึกษากับตัวแทน ชาวบ้านเจ้าของพื้นที่ เลือกเส้นทางเดิมเพื่อไม่ให้นักท่องเที่ยวเข้าไปรบกวนสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ป่า ส่วนอื่น จากการสำรวจป่าทั้ง 3 หมู่บ้าน พบต้นกล้วยไม้มีฤดูดอกต่างกัน ซึ่งนักท่องเที่ยวจะมีโอกาสได้ เลือกชมดอกกล้วยไม้ได้แต่ละฤดูกาล ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ชนิดกล้วยไม้ที่ออกดอกในแต่ละฤดูกาลของบ้านห้วยฮี้ บ้านห้วยเสือเฒ่า และบ้านถ้ำลอด

| เดือน | ชนิดกล้วยไม้ที่ออกดอก |
|---|---|
| ฤดูหนาว<br>(มกราคม-กุมภาพันธ์) | เอื้องแซะหลวง เอื้องตาเหิน เอื้องม่อนไข่ เอื้องสีตาล แววมยุรา สิงโตกลอกตา เสือดำ สกุล *Cleirostoma, Diplopora* และ *Trichotosia* กล้วยไม้ดิน สกุล *Cheirostylis* และ *Goodyera procera* |
| ฤดูร้อน<br>(มีนาคม -พฤษภาคม) | กล้วยไม้สกุลหวายหลายชนิด เช่น เอื้องคำ เอื้องผึ้ง เอื้องคำปากไก่ เอื้องชะนี เอื้องครั่ง เอื้องสายมรกต เอื้องสายน้ำเขียว เอื้องแปรงสีฟัน เอื้องเงิน เอื้องเงินแดง เอื้องดอกมะขาม เอื้องเก๊ากิ่ว เอื้องช้างน้าว เอื้องคำปอน เอื้องสาย เอื้องกิ่งดำ เอื้องคำกิ่ว สกุลเอื้องกุหลาบ เช่น เอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิด เอื้องกุหลาบแดง เอื้องกุหลาบมาลัยแดง เอื้องกุหลาบอินทจักร สามปอย ชมพู เข็มเหลือง ไอยเรศ เสือโคร่ง *Eria Luisia* และรองเท้านารีฝาหอย |
| ฤดูฝน<br>(มิถุนายน-กันยายน) | เอื้องคำปอน เอื้องคำฝอยปาย เสือโคร่ง สามปอยชมพู พญาไร้ใบ ไอยเรศ เอื้องสายสร้อย เอื้องต่อ สิงโตกลอกตา เอื้องบายศรี กล้วยไม้ดินหลายชนิด เช่น ลิ้นมังกร นางอั้ว นางอั้วปาก ฝอยดอยปุย ว่านดิน ว่านนางตาม เอื้องดินลาว |
| ฤดูหนาว<br>(ตุลาคม-ธันวาคม) | เอื้องแซะภู เอื้องศรีเทียง มังกรทอง ช้างสารภี ช้างสารภีน้อย ฟ้ามุ่ย สามปอย เอื้องจิ๋ว สิงโตสมอหิน สิงโตกลอกตา สร้อยระย้า *Drymoda Pelatantheria Liparis* รองเท้านารีอินทนนท์ กล้วยไม้ดิน เอื้องเหลี่ยม หัวบัวเดี่ยว |

นอกจากนั้นทางโครงการได้ทำเอกสารกล้วยไม้ป่า เป็นคู่มือการจำแนกพันธุ์อย่างง่าย ลักษณะการเจริญเติบโตของต้น ลักษณะใบ ช่อดอก และดอก สำหรับให้ชาวบ้านผู้ร่วมวิจัยได้รู้วิธีการแบ่งประเภท และสามารถอธิบายให้นักท่องเที่ยวได้ จัดทำประกาศนียบัตรให้กับหมู่บ้านห้วยฮี้เก็บไว้ เพื่อมอบเป็นที่ระลึกให้นักท่องเที่ยวที่เข้ามาในหมู่บ้านและเดินเข้าป่าในเส้นทางเที่ยวป่า โดยมีชาวบ้านเป็นผู้นำทาง เป็นการเผยแพร่ให้ได้รู้จักต่อ ๆ กันไป เมื่อปลายปี พ.ศ. 2542 ชาวบ้านห้วยฮี้ได้ใช้งบพัฒนาหมู่บ้าน ปรับปรุงเส้นทางเดินป่า ถากดิน ทำขั้นบันไดบริเวณที่สูงชัน เพื่อให้นักท่องเที่ยวเดินขึ้นเขาได้ง่าย

**การวิจัยเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเมล็ดต้นกล้วยไม้เอื้องคำ โดยใช้เทคโนโลยี *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างง่าย***

เอื้องคำ (*Dendrobium chrysotoxum*) เป็นกล้วยไม้ป่าที่ชาวบ้านนิยมปลูกเลี้ยง มีการเจริญเติบโตเป็นกอ ลำลูกกล้วยอวบ สีทอง ผิวมันคล้ายลำเทียน ช่อยาว ดอกสีเหลืองทอง กลีบหนา เป็นมัน มีกลิ่นหอม ดอกบานตั้งแต่ปลายเดือนมกราคมถึงเมษายน ปัจจุบันมีจำนวนลดน้อยลงมาก จึงจำเป็นต้องวิจัยการเพาะเมล็ดโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ และปลูกเลี้ยงต้นกล้าให้รอดตาย โดยพัฒนาเทคนิคให้ง่ายสำหรับสอนชาวบ้านให้ทำได้ แบ่งเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

1. การพัฒนาสูตรอาหารเพาะเมล็ดเอื้องคำโดยใช้วัสดุที่หาง่ายในป่า

สูตรมาตรฐานที่นิยมใช้นั้นประกอบด้วยสารเคมีในสูตร Vacin-Went มี 7 ชนิด ได้แก่ น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม มันฝรั่ง น้ำตาลทราย วุ้น และถ่านกัมมันต์ ค่า pH 5 เพื่อให้ได้สูตรอาหารที่ชาวบ้านสามารถทำได้โดยใช้สารเคมีน้อยที่สุดและใช้อินทรีย์สารที่หาได้ง่ายในป่า จึงทดลองใช้ปุ๋ยกล้วยไม้ที่มีขายทั่วไป สูตร 21-21-21 ใส่วิตามินรวมเพื่อเพิ่มธาตุอาหาร วิตามิน เมื่อได้ทราบผลการใช้ปุ๋ยต่อการงอกของเมล็ดแล้ว จึงทดลองอีกครั้งโดยไม่ใช้น้ำมะพร้าวอ่อน เพราะหาไม่ได้ในป่า และใช้กล้วยน้ำว้าแทนกล้วยหอม มี 3 การทดลอง ดังนี้

1.1 การใช้ปุ๋ยกล้วยไม้และวิตามินรวม แทนสารเคมีในสูตรอาหารเพาะเมล็ด

หลังจากเพาะเมล็ดโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 15 วัน พบว่าเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ทุกสูตรอาหารมีการเปลี่ยนแปลง โดย embryo มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีสีเขียว พัฒนาเป็นโปรโตคอร์ม (protocorms) มีลักษณะเป็นก้อนกลม ขนาด 1-2 มม. มีขนอ่อนโดยรอบ และมีต้นงอกจำนวนมากในทุกสูตรอาหารที่ใส่วิตามินรวมไวเทอร่า จากนั้น โปรโตคอร์มพัฒนาใบยอด จาก 1 เป็น 2 ใบ ใบยาวขึ้นหลังจากเพาะเมล็ดนาน 2 เดือน ต้นกล้าจำนวนมากงอกแน่นในขวดเพาะ จึงนำต้นกล้าจากทุกสูตรอาหารมาคำนวณค่า Growth Index (Harrison and Arditti, 1978) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน โดยต้นกล้าในสูตร Vacin-Went ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐานมีค่า 295.21 และต้นกล้าในสูตรที่ใส่ปุ๋ยกรีนลีฟ 1 และ 2 กรัม และวิตามินรวม มีค่า 297.18 และ 281.74 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และพบว่าการงอกและการพัฒนาของ โปรโตคอร์ม ในสูตรอาหารที่ใส่ปุ๋ยกรีนลีฟ 2 กรัมและไม่ใส่วิตามินนั้น แสดงอาการผิดปกติ โปรโตคอร์มพัฒนาช้า และมีสีเหลืองอ่อน ฉ่ำน้ำ

ตารางที่ 3. ค่า Growth Index ของต้นกล้าเอื้องคำ หลังการเพาะเมล็ด 2 เดือน บนสูตรอาหารที่ใช้สารเคมีสูตร Vacin-Went หรือปุ๋ยกรีนลีฟ ใส่และไม่ใส่วิตามินรวม

| สารเคมีในสูตรอาหาร | ไม่ใส่วิตามิน | ใส่วิตามิน |
|---|---|---|
| Vacin-Went | 295.21 | 282.89 |
| ปุ๋ย กรีนลีฟ 1 กรัม | 235.69 | 297.18 |
| ปุ๋ย กรีนลีฟ 2 กรัม | 191.52 | 281.74 |

1.2 ผลของการใช้ปุ๋ยกล้วยไม้ 2 ชนิด แทนสารเคมีในสูตรอาหารเพาะเมล็ด

เปรียบเทียบการใช้ปุ๋ยกรีนลีฟ และปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ ที่มีสูตรเดียวกัน คือ 21-21-21 และใช้ในอัตรา 1 หรือ 2 กรัม/ลิตร โดยไม่ใส่วิตามินรวม หลังการเพาะเมล็ดพบว่าเมล็ดมีการงอกและการพัฒนา เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 คือ สูตรมาตรฐาน Vacin-Went และสูตรที่ใส่ปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ ปริมาณ 1 หรือ 2 กรัม โดยมีค่า Growth Index 206.50, 201.34 และ 217.84 ตามลำดับ โดยสูตรที่ใส่ปุ๋ยกรีนลีฟนั้นเมล็ดงอกจำนวนน้อย โปรโตคอร์มมีการพัฒนาผิดปกติ และมีจำนวนต้นกล้าที่พัฒนาเป็น Grade 3 เพียงร้อยละ 7.34 และ 6.63 เท่านั้น (ตารางที่ 4) การใช้ปุ๋ยกล้วยไม้ในสูตรอาหารเพาะเมล็ดให้ผลดีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า ตรงกับรายงานของ Islam และคณะ, 1999 ซึ่งใช้ปุ๋ย Hyponex (6.5-6-19) จำนวน 3 กรัม sucrose 30 กรัม วุ้น 8 กรัม ปรับค่า pH 5.6 ใช้เพาะเมล็ดกล้วยไม้สกุลคัทลียา จากผลการทดลองนี้ พบว่าการใช้ปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ ปริมาณ 2 กรัม ให้ผลดีต่อการงอกและพัฒนาเป็นต้นกล้ามากที่สุด ดังนั้น ในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ ปริมาณ 2 กรัม แทนสารเคมีในสูตร Vacin-Went

ตารางที่ 4. ค่า Growth Index ของต้นกล้าเอื้องคำ หลังการเพาะเมล็ดนาน 2 เดือน บนสูตรอาหารที่ใช้สารเคมีสูตร Vacin-Went และปุ๋ยกล้วยไม้ 2 ชนิด

| สารเคมีในสูตรอาหาร | Growth Index |
|---|---|
| Vacin-Went | 206.50 |
| ปุ๋ยกรีนลีฟ 1 กรัม | 133.37 |
| ปุ๋ยกรีนลีฟ 2 กรัม | 121.46 |
| ปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ 1 กรัม | 201.34 |
| ปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ 2 กรัม | 217.84 |

1.3 สูตรอาหารเพาะเมล็ดเอื้องคำโดยใช้วัสดุที่หาง่ายในป่า

หลังจากทดลองได้สูตรอาหารที่ใช้ปุ๋ยแทนสารเคมีในสูตร Vacin-Went แล้ว ทางโครงการได้ร่วมมือกับศูนย์พันธุวิศวกรรมแห่งชาติ เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในท้องถิ่นทุรกันดารที่ อ.แม่สะเรียง พบว่ามีอินทรียวัตถุที่เป็นส่วนประกอบของสูตรอาหารและหาได้ยากในป่า เช่น น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม ดังนั้น จึงทำการทดลองต่อโดยเปรียบเทียบสูตรอาหารที่ไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน ใช้กล้วยน้ำว้าแทนกล้วยหอม เพิ่มมันฝรั่ง และวิตามินรวม เพื่อให้ได้แร่ธาตุที่จำเป็นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนจากผลการทดลอง พบว่าเมล็ดเอื้องคำงอกจำนวนมาก และมีการพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ในทุกสูตรอาหาร และมีแนวโน้มว่าในสูตรที่ใส่กล้วยน้ำว้า ไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน ใส่หรือไม่ใส่มันฝรั่ง ทั้ง 3 แบบ มีค่า Growth Index มากกว่าที่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน (ตารางที่ 5) ดังนั้นจึงได้สูตรที่เหมาะสมสำหรับชาวบ้านที่อยู่ไกลเมือง โดยในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย ปุ๋ยทวินเฟอร์ตี้ สูตร 21-21-21 ปริมาณ 2 กรัม วิตามินรวมไวเทอร่า 1 แคปซูล น้ำตาลทราย 20 กรัม กล้วยน้ำว้า 50 กรัม วุ้น 5 กรัม และผงถ่าน 2 กรัม เนื่องจากการวิจัยนี้ได้รับทุนวิจัยจากโครงการ BRT จึงตั้งชื่อสูตรอาหารนี้ว่า **สูตร BRT1** (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 5. ค่า Growth Index ของต้นกล้าเอื้องคำหลังการเพาะเมล็ด 2 เดือน บนสูตรอาหารที่ใช้ปุ๋ยกล้วยไม้แทนสารเคมีโดยใส่และไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน

| ชนิดกล้วย/ลิตร | มันฝรั่ง | น้ำมะพร้าวอ่อน | |
|---|---|---|---|
| | | 150 มล./ลิตร | ไม่ใส่ |
| กล้วยหอม 50 กรัม | ไม่ใส่ | 265.09 | 246.52 |
| กล้วยน้ำว้า 50 กรัม | ไม่ใส่ | 276.29 | 281.42 |
| | น้ำต้มจากมันฝรั่ง 100 กรัม | 275.93 | 286.54 |
| | มันฝรั่งบด 50 กรัม | 270.26 | 284.51 |

2. การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อเลี้ยงต้นกล้าให้แข็งแรงในสภาพปลอดเชื้อ ก่อนนำออกปลูก

2.1 การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อเลี้ยงต้นกล้าเอื้องคำให้แข็งแรงโดยใช้อินทรีย์สารที่หาง่ายในป่า

หลังการเพาะเมล็ดเอื้องคำในสภาพปลอดเชื้อนาน 2 เดือน ต้นกล้าเอื้องคำมีใบ 2-3 ใบ ต้นสูงประมาณ 2 ซม. ขึ้นเบียดกันแน่นในขวดเพาะ จึงทดลองย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรใหม่ในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ปุ๋ยกล้วยไม้สูตร 21-21-21 ทดลองใส่และไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน และใช้กล้วยน้ำว้าแทนกล้วยหอม ถ่ายขวดต้นกล้าลงในอาหารสูตรใหม่โดยเลี้ยง 3 ต้น หรือ 5 ต้น/ขวด เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต พบว่าต้นกล้ามีการเจริญเติบโตต่อเนื่องทั้งทางยอดและราก เมื่อครบ 4 เดือน ต้นมีขนาดใหญ่ จึงนำต้นกล้าออกจากสภาพปลอดเชื้อ ชั่งน้ำหนักสด นับจำนวนลำ/กอ วัดความสูงลำ เส้นผ่านศูนย์กลางลำ จำนวนใบเฉลี่ย ความยาวใบ และความยาวราก

จากผลการทดลองพบว่า ต้นกล้าเอื้องคำมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ในอาหารสูตรที่ใส่วิตามินรวมไวเทอร่า 1 แคปซูล ไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน ใส่กล้วยน้ำว้า 50 กรัม และมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 1,547 มก./ต้น และ 1,493 มก./ต้น เมื่อใส่กล้วยหอม 100 กรัม ในสภาพที่เลี้ยง 3 ต้น/ขวด หรือมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 1,576 มก./ต้น ในสูตรอาหารที่ใส่กล้วยน้ำว้า 50 กรัม และ 1,110 มก./ต้น เมื่อใส่กล้วยหอม 100 กรัม ในสภาพที่เลี้ยงเลี้ยง 5 ต้น/ขวด ใกล้เคียงกับต้นกล้าในทุกสูตรอาหารที่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน นอกจากนั้นยังพบว่า การใช้กล้วยน้ำว้าเพียง 50 กรัมต่อลิตร ให้ผลต่อการเจริญเติบโตของต้นและระบบรากดีกว่าการใช้ 100 กรัม/ลิตร เนื่องจากเนื้อกล้วยน้ำว้ามีความเหนียวมากกว่ากล้วยหอม ทำให้มีจำนวนราก/ต้น และความยาวรากน้อยกว่า และพบว่าในทุกสูตรอาหารที่ใส่วิตามินนั้น ต้นมีการเจริญเติบโตดีกว่าในสูตรที่ไม่ใส่วิตามิน การใส่หรือไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน ให้ผลต่อการเจริญเติบโตไม่ต่างกัน (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6. ผลของน้ำมะพร้าวอ่อน ชนิดกล้วย และวิตามินรวม ในอาหารสูตรที่ใส่ปุ๋ยแทนสารเคมี ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องคำอายุ 4 เดือน หลังการถ่ายขวด 3 และ 5 ต้น/ขวด

| น้ำมะพร้าวอ่อน (มล./ลิตร) | ชนิดกล้วย | วิตามิน (แคปซูล) | 3 ต้น/ขวด | | 5 ต้น/ขวด | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | น้ำหนักสด (มก.) | จำนวน ลำ/กอ | น้ำหนักสด (มก.) | จำนวน ลำ/กอ |
| 150 | กล้วยหอม | 0 | 246 | 1.80 | 576 | 2.50 |
| | 100 กรัม/ลิตร | 1 | 1,340 | 3.73 | 1,520 | 4.00 |
| | กล้วยน้ำว้า | 0 | 293 | 2.07 | 260 | 2.20 |
| | 100 กรัม/ลิตร | 1 | 880 | 4.67 | 1,280 | 3.30 |
| 0 | กล้วยหอม | 0 | 147 | 2.43 | 476 | 3.40 |
| | 100 กรัม/ลิตร | 1 | 1,493 | 4.40 | 1,110 | 4.35 |
| | กล้วยน้ำว้า | 0 | 420 | 2.93 | 370 | 2.60 |
| | 100 กรัม/ลิตร | 1 | 947 | 4.67 | 890 | 3.60 |
| | กล้วยน้ำว้า | 0 | 1,013 | 4.53 | 1,290 | 3.75 |
| | 50 กรัม/ลิตร | 1 | 1,547 | 3.93 | 1,576 | 3.95 |
| F-test | | | ** | ** | ** | ** |

ตารางที่ 7. การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องคำในสภาพปลอดเชื้อ ในอาหารที่ใช้สารเคมี สูตร Vacin-Went และสูตร BRT2

| ลักษณะการเจริญเติบโต | สูตร BRT2 | สูตร Vacin-Went | |
|---|---|---|---|
| | | ไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน ใส่กล้วยน้ำว้า 50 กรัม มันฝรั่งและวิตามินรวม | สูตรมาตรฐาน |
| น้ำหนักสด (มก.) | 1,561.5 | 1,648.5 | 1,539.5 |
| จำนวนลำ/กอ | 3.94 | 3.59 | 3.44 |
| ขนาดลำ-ความสูง (ซม.) | 2.11 | 2.31 | 2.45 |
| -ความกว้าง (ซม.) | 0.59 | 0.61 | 0.58 |
| ใบ -จำนวน | 3.44 | 3.32 | 3.58 |
| -ความยาว (ซม.) | 3.36 | 3.46 | 3.28 |
| -ความกว้าง (ซม.) | 0.49 | 0.52 | 0.52 |
| ราก -จำนวน | 14.69 | 14.36 | 11.74 |
| -ความยาว (ซม.) | 7.99 | 8.97 | 7.31 |

เมื่อนำผลการเจริญเติบโตของต้นกล้าในอาหารสูตรที่ใส่ปุ๋ย 2 กรัม วิตามินรวมไวเทอร่า 1 แคปซูล ไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน ใส่กล้วยน้ำว้า 50 กรัม และมันฝรั่ง มาเปรียบเทียบกับต้นกล้าเอื้องคำที่เลี้ยงในสูตรมาตรฐานซึ่งใช้สารเคมีจาก Vacin-Went ที่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วยหอม และมันฝรั่ง พบว่าต้นกล้ามีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกันในทุกลักษณะ (ตารางที่ 7) ดังนั้นจึงได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในท้องถิ่นทุรกันดาร คือ สูตรที่ใน 1 ลิตร ใส่ปุ๋ยกล้วยไม้ทวินเฟอร์ตี้ สูตร 21-21-21 ปริมาณ 2 กรัม มันฝรั่งบด 50 กรัม น้ำตาลทราย 20 กรัม กล้วยน้ำว้าบด 50 กรัม วิตามินรวมไวเทอร่า 1 แคปซูล วุ้น 5 กรัม ผงถ่าน 2 กรัม ค่า pH=4.8-5.2 และเนื่องจากการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการการศึกษาและวิจัยเพื่อพัฒนาองค์ความรู้ด้านความหลากหลายทางชีวภาพ (BRT) จึงตั้งชื่ออาหารสูตรนี้ว่า **สูตร BRT 2** (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8. สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเมล็ดและเลี้ยงต้นกล้าเอื้องคำในสภาพปลอดเชื้อปริมาณ 1 ลิตร ปรับค่า pH=4.8-5.2

| สูตร Vacin-Went (สูตรมาตรฐานที่นิยมใช้) | สูตรอาหารที่ทางโครงการพัฒนาขึ้น | |
|---|---|---|
| | BRT1(เพาะเมล็ด) | BRT2 (เลี้ยงต้นกล้า) |
| **สารเคมี**<br>1. Trixcalcium phosphate 0.2 กรัม<br>2. Potassium nitrate 0.525 กรัม<br>3. Ammonium sulfate 0.5 กรัม<br>4. Monopotassium acid phosphate 0.25 กรัม<br>5. Magnesium sulfate 0.25 กรัม<br>6. Manganese sulfate 0.0075 กรัม<br>7. Ferric tartrate 0.028 กรัม | **สารเคมี**<br>1. ปุ๋ยกล้วยไม้ทวินเฟอร์ตี้ สูตร 21-21-21 ปริมาณ 2 กรัม<br>2. วิตามินรวมไวเทอร่า 1 แคปซูล ละลายในน้ำร้อน | **สารเคมี**<br>1. ปุ๋ยกล้วยไม้ทวินเฟอร์ตี้ สูตร 21-21-21 ปริมาณ 2 กรัม<br>2. วิตามินรวมไวเทอร่า 1 แคปซูล ละลายในน้ำร้อน |
| **น้ำตาล**<br>น้ำตาลทราย 20 กรัม | **น้ำตาล**<br>น้ำตาลทราย 20 กรัม | **น้ำตาล**<br>น้ำตาลทราย 20 กรัม |
| **อินทรียสาร**<br>1. น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มล.<br>2. กล้วยหอม 100 กรัม | **อินทรียสาร**<br>1. กล้วยน้ำว้า 50 กรัม | **อินทรียสาร**<br>1. กล้วยน้ำว้า 50 กรัม<br>2. มันฝรั่งบด 50 กรัม |
| **อื่น ๆ**<br>1. วุ้นที่ใช้ทำขนม 5 กรัม<br>2. ถ่านบดละเอียด 2 กรัม | **อื่น ๆ**<br>1. วุ้นที่ใช้ทำขนม 5 กรัม<br>2. ถ่านบดละเอียด 2 กรัม | **อื่น ๆ**<br>1. วุ้นที่ใช้ทำขนม 5 กรัม<br>2. ถ่านบดละเอียด 2 กรัม |
| **สูตรเลี้ยงต้นกล้าให้แข็งแรง**<br>เพิ่ม น้ำต้มจากมันฝรั่ง 100 กรัม | | |

***การขยายพันธุ์กล้วยไม้ป่าที่มีดอกสวยงามเพื่อนำไปปลูกเสริมในเส้นทางท่องเที่ยว***

ทางโครงการได้เก็บฝักกล้วยไม้จากป่าแม่ฮ่องสอนไปเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อนำต้นกล้า ไปสอนให้ชาวบ้านเรียนรู้เทคโนโลยีการปลูกเลี้ยงลูกกล้วยไม้ และเลี้ยงต้นกล้าให้แข็งแรงก่อนนำไปปลูกเพิ่ม ในเส้นทางท่องเที่ยว ในเดือนกุมภาพันธ์ 2541 ได้มีการรวบรวม ฝักเอื้องคำ เอื้องกิ่งดำ และเอื้องช้างน้าว จาก จ.แม่ฮ่องสอน ไปเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยทางโครงการมีเป้าหมายผลิตต้นกล้าเอื้องคำ กล้วยไม้ช้างชนิดละ 10,000 ต้น และต้นกล้ากล้วยไม้ชนิดอื่นที่มีดอกสวยงามชนิดละ 200 ต้น ผลการเพาะเมล็ดเอื้องคำ พบว่าเมล็ดงอกจำนวนมาก นับหมื่นต้นต่อฝัก หลังจากเพาะเมล็ดนาน 2 เดือน ต้นกล้าสูง 1-2 ซม. มีใบ 2-3 ใบ จึงถ่ายขวดไปเลี้ยงบนอาหารสูตรใหม่ เพื่อให้ต้นมีการเจริญเติบโตดี ขวดละ 40 ต้น รวม 300 ขวด และทยอยนำออกปลูกเมื่อต้นกล้าแข็งแรง มีระบบรากที่สมบูรณ์ ใช้เวลาการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ 6-12 เดือน (ทยอยกันถ่ายขวด)

ในเดือนกันยายน 2541 ได้นำต้นกล้าที่ถ่ายขวดชุดแรกออกจากขวดเพาะ ทดลองปลูกที่เรือนทดลองของภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ โดยเปรียบเทียบวิธีการปลูกเลี้ยงระหว่างการปลูกแยกแต่ละต้น และปลูกรวม 3-5 ต้น หุ้มรากด้วยใยมะพร้าวหรือกาบมะพร้าว แล้ววางเสียบแต่ละต้นในตะแกรงพลาสติก หรือวางเรียงในตะกร้าพลาสติก รดน้ำทุกเช้า งดรดน้ำเมื่อฝนตก หรือเครื่องปลูกชุ่มน้ำ รดปุ๋ยเจือจางทุก 7 วัน พบว่าต้นกล้าที่ปลูกรวม 3-5 ต้น แล้ววางเสียบแต่ละต้นในตะแกรงพลาสติก หรือวางเรียงในตะกร้าพลาสติกขนาด 4 นิ้ว ตะกร้าละ 4-5 ต้น รอดตายเกือบทั้งหมด และต้นที่วางเรียงจำนวน 30-40 ต้น ในตะกร้าพลาสติกขนาดใหญ่ มีต้นตายประมาณ 40% เมื่อได้รับความชื้นมากไปจนเครื่องปลูกเปียกชุ่ม แต่ถ้าแยกปลูกต้นเดียว หรือวางเรียงกันโดยไม่มีเครื่องปลูกหุ้มราก ต้นจะตายเกือบหมด หลังจากปลูกเลี้ยงในเรือนกันฝนนาน 1 เดือน ได้ย้ายปลูกลงตะกร้าพลาสติกขนาด 4 นิ้ว ตะกร้าละ 4-5 ต้น วางต้นในเรือนพรางแสงให้ได้รับแสง 50% พบว่าต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดี แตกหน่อใหม่ที่อ้วนและสูงกว่าลำเดิม (ตารางที่ 9) และพบว่าต้นกล้าที่เลี้ยงในสภาพที่ได้รับความชื้นน้อยมาก จนเครื่องปลูกแห้งกรอบในบางครั้งนั้น ต้นกล้าไม่ตาย แต่มีการเจริญเติบโตช้า แสดงว่าต้นกล้าทนแล้งได้ดี ซึ่งจะใช้ข้อดีนี้นำต้นกล้าไปปลูกในป่าได้

ตารางที่ 9. ผลการเปรียบเทียบวิธีการปลูกเลี้ยงต้นกล้าเอื้องคำเมื่อนำออกจากสภาพปลอดเชื้อ

| วิธีการปลูก | จำนวนร้อยละที่รอดตาย | |
|---|---|---|
| | ปลูกต้นเดี่ยว | ปลูกรวมเป็นกลุ่ม 3-5 ต้น |
| ในเรือนกันฝน | | |
| -วางเรียงในกระถางโดยไม่หุ้มรากด้วยใยมะพร้าว | 5 | 5 |
| -วางเสียบแต่ละต้นลงช่องตะแกรงพลาสติก | 10 | 90 |
| -ในตะกร้าพลาสติกขนาด 4 นิ้ว (4-5 ต้น) | 10 | 90 |
| -ในตะกร้าพลาสติกขนาดใหญ่ (30-40 ต้น) | 10 | 80<br>60 (ถ้าเครื่องปลูกชุ่มน้ำ) |
| ในเรือนพรางแสง 50 % | | |
| -ในตะกร้าพลาสติกขนาด 4 นิ้ว (4-5 ต้น) | 10 | 90 |
| -ในตะกร้าพลาสติกขนาดใหญ่ (30-40 ต้น) | 10 | 80<br>60 (ถ้าเครื่องปลูกชุ่มน้ำ) |

ดังนั้น ในปลายเดือนมกราคม 2542 จึงนำต้นกล้าอีกประมาณ 10,000 ต้น ไปปลูกที่ศูนย์ศึกษาและบริการลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน และบางส่วนแบ่งไปให้ชาวบ้านที่บ้านห้วยฮี้และบ้านห้วยเสือเฒ่าทดลองปลูก ชาวบ้านห้วยฮี้ที่ร่วมโครงการได้เลือกวัสดุปลูกจากป่า เช่น มอส กระบอกไม้ไผ่ มาใช้ในการปลูกต้นกล้า ต่อมาในเดือนกรกฎาคม 2542 ซึ่งเป็นช่วงต้นฤดูฝน จึงได้นำต้นกล้าเอื้องคำทั้งหมดจากศูนย์ศึกษาและบริการลุ่มน้ำปาย ไปมอบให้ชาวบ้านห้วยฮี้ และห้วยเสือเฒ่าทดลองปลูก โดยส่วนหนึ่งให้ปลูกที่ข้างบ้าน และอีกส่วนนำไปผูกติดกับต้นไม้ใหญ่ในเส้นทางท่องเที่ยว พบว่าลูกกล้วยไม้รอดตายประมาณครึ่งหนึ่ง

ทางโครงการได้เก็บฝักต้นกล้วยไม้ชนิดอื่นที่มีดอกสวยงาม ไปเพาะเมล็ดเมื่อเดือนพฤศจิกายน 2541 เช่น เอื้องแซะหลวง เอื้องผึ้ง เอื้องเงิน เอื้องไม้เท้าฤาษี เอื้องสายสามสี เอื้องช้างน้าว เข็มเหลือง ฟ้ามุ่ย สามปอย ไอยเรศ เอื้องคำ แล้วได้นำต้นกล้าบางส่วนไปมอบให้ชาวบ้านปลูกเมื่อต้นฤดูฝน ในเดือนกรกฎาคม 2542 เนื่องจากมีงบประมาณจำกัด จึงขยายพันธุ์ได้เพียงชนิดละ 200 ต้น นอกจากนั้นในเดือนพฤศจิกายน 2542 ชาวบ้านห้วยฮี้และหมู่บ้านหนองขาวได้นำฝัก

ฟ้ามุ่ยที่ได้ผสมเกสรไว้ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2541 มามอบให้นักวิจัยนำไปเพาะเมล็ด ฟ้ามุ่ยเป็นกล้วยไม้ชนิดที่ใกล้จะสูญพันธุ์ จึงจัดเป็นพืชอนุรักษ์ในบัญชีที่ 1 มีแหล่งกำเนิดทางภาคเหนือ มีดอกขนาดใหญ่ สีม่วงอมฟ้า นิยมใช้เป็นพ่อแม่ไม้เพื่อผลิตแวนด้าลูกผสม ต้นเจริญเติบโตดีในป่าห้วยฮี้และหนองขาว จึงเพาะเมล็ดฟ้ามุ่ยและเอื้องไม้เท้าฤาษีให้ได้ต้นกล้าจำนวนมาก และไปให้ชาวบ้านปลูกในเส้นทางท่องเที่ยวป่าแทนกล้วยไม้ช้าง ซึ่งเดิมทางโครงการได้วางแผนงานขยายพันธุ์จำนวน 10,000 ต้น เพราะมีรายงานพบต้นกล้วยไม้ช้างที่ป่างมะผ้า (Seidenfaden and Smitinand,1965) และพบที่พม่า แต่จากการสำรวจในป่าทั้ง 3 หมู่บ้าน ไม่พบต้นกล้วยไม้ช้าง จึงให้ชาวบ้านเลี้ยงกล้วยไม้ช้างในหมู่บ้าน ไม่นำไปปลูกในป่า

***การถ่ายทอดเทคโนโลยีการปลูกเลี้ยงลูกกล้วยไม้สู่ตัวแทนชาวบ้านในโครงการ***

ทางโครงการวางแผนงานถ่ายทอดเทคโนโลยีให้ชาวบ้านโดยสร้างจิตสำนึกในการอนุรักษ์ และแรงจูงใจในการเลี้ยงลูกกล้วยไม้ โดยมอบต้นกล้าช้างแดงให้ชาวบ้านไปทดลองปลูกเลี้ยง และให้สัญญาว่า ถ้าเลี้ยงรอดจะให้เพิ่มอีก ทางผู้วิจัยออกตรวจเยี่ยมและให้คำแนะนำอย่างสม่ำเสมอ พบว่าชาวบ้านมีความสนใจและเอาใจใส่ในการปลูกเลี้ยง เมื่อชาวบ้านมีความพร้อมและมั่นใจว่าปลูกเลี้ยงลูกกล้วยไม้ได้ ทางโครงการจึงนำต้นกล้าเอื้องคำ เอื้องช้างน้าว เอื้องกิ่งดำต้นขนาดใหญ่ในขวดเพาะ และต้นกล้าอายุ 6 เดือน ที่แข็งแรงแล้วไปให้ปลูกที่หมู่บ้านห้วยฮี้และห้วยเสือเฒ่า พบว่าต้นมีการเจริญเติบโตดี เนื่องจากอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เป็นแหล่งกำเนิดเดิม

สำหรับการปลูกลูกกล้วยไม้บนต้นไม้ในป่า ได้ทดลองที่หมู่บ้านห้วยฮี้เพียงหมู่บ้านเดียว เนื่องจาก มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม มีความชื้นสูง และสามารถควบคุมไม่ให้มีคนมาเก็บไปได้ ในเดือนกรกฎาคม 2542 ได้นำต้นกล้าเอื้องคำให้กับหมู่บ้านเพื่อนำไปปลูกบนต้นไม้ในป่า จากการสำรวจเมื่อเดือนพฤศจิกายน 2542 พบว่าต้นเอื้องคำรอดตายประมาณครึ่งหนึ่ง แต่ต้นกล้าช้างน้าว และเอื้องกิ่งดำรอดตายเกือบทั้งหมด

ที่บ้านห้วยเสือเฒ่า ชาวบ้านพบว่าการนำต้นกล้าช้างผูกกับท่อนไม้แล้วแขวนไว้ในเรือนข้างบ้านนั้น ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดีกว่าการปลูกใส่กระถางแล้ววางบนโต๊ะ มีเพื่อนบ้านสนใจและอยากได้ต้นเพิ่มเพื่อปลูกขายให้นักท่องเที่ยวที่เข้ามาเที่ยวทุกวัน ถ้าทางโครงการสามารถผลิตต้นกล้าจากขวดเพาะให้เขาได้ จะเป็นรายได้ที่ดีของชาวห้วยเสือเฒ่า และสร้างภาพลักษณ์ที่ดีให้กับจังหวัดแม่ฮ่องสอน ที่ไม่มีการเก็บต้นจากป่ามาขาย สำหรับหมู่บ้านถ้ำลอดนั้น เนื่องจากอยู่ในอำเภอป่างมะผ้า ต้องใช้เวลาเดินทาง 2 ชั่วโมง จากบ้านห้วยเสือเฒ่า ผลการปลูกลูกกล้วยไม้จึงสำเร็จน้อยกว่า และในปีที่สอง ทางโครงการได้นำลูกกล้วยไม้ช้างและเอื้องคำไปมอบให้ทดลองเลี้ยงใหม่เมื่อเดือนพฤศจิกายน 2542 ชาวบ้านถ้ำลอดมีความสนใจมาก เพราะหมู่บ้านอยู่ในแหล่งท่องเที่ยว จึงมีโอกาสที่จะมีรายได้จากการปลูกลูกกล้วยไม้ขายนักท่องเที่ยวเช่นเดียวกับหมู่บ้านห้วยเสือเฒ่า

***การถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสู่ตัวแทนชาวบ้าน***

เนื่องจากชาวบ้านหมู่บ้านห้วยฮี้ สนใจเรียนรู้วิธีขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงได้อบรมโครงการ “การถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อพัฒนาการศึกษาในถิ่นห่างไกล” โดย ดร.เฉลิมพล เกิดมณี ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่โรงเรียนแม่สะเรียงบริพัตรศึกษา อ.แม่สะเรียง จ.แม่ฮ่องสอน

## บทสรุป

จากการวิจัยร่วมกับชาวบ้านในพื้นที่ทั้ง 3 หมู่บ้าน ของจังหวัดแม่ฮ่องสอน พบว่าชาวบ้านมีความสนใจ รู้จักต้นกล้วยไม้ป่าหลายชนิด และเป็นการเรียนรู้ร่วมกันระหว่างนักวิจัยกับชาวบ้านเจ้าของพื้นที่ หลังการร่วมงานวิจัยได้ 8 เดือน ชาวบ้านในหมู่บ้านห้วยฮี้และหมู่บ้านใกล้เคียง ร่วมใจกันอนุรักษ์ต้นกล้วยไม้ป่า คอยระวังไม่ให้มีการเก็บต้นจากป่า และพานักท่องเที่ยวเดินป่าเฉพาะในเส้นทางท่องเที่ยวเท่านั้น เพื่อไม่ให้มีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมของพื้นที่ เป็นตัวอย่างที่ดีในการจัดการทั้งด้านการบริหารในหมู่บ้านและการสนใจศึกษาหาความรู้ เพื่ออธิบายให้นักท่องเที่ยวฟังระหว่างการเดิน เที่ยวป่า นอกจากนั้นยังใช้งบพัฒนาหมู่บ้านส่วนหนึ่งมาพัฒนาเส้นทางเดินป่า คนทั้งหมู่บ้านช่วยกันทำขั้นบันไดบนภูเขา เพื่อให้นักท่องเที่ยวเดินง่าย และทำที่นั่งพักเหนื่อยทุก 500 เมตร เก็บต้นกล้วยไม้ป่าจากต้นไม้ล้มมาปลูกเพิ่มบนต้นไม้ในเส้นทางเดินป่า ใช้วัสดุธรรมชาติ เช่น ใบตอง ห่อข้าวขึ้นไปกินช่วงเดินป่า เก็บขยะลงมาจากป่า ผลจากการ

อนุรักษ์ จูงใจให้มีนักท่องเที่ยวทั้งชาวไทยและต่างประเทศเข้าไปเยี่ยมเยือนประมาณ 100 คน ชาวบ้านงดล่าสัตว์ ส่งผลให้มีสัตว์ป่าหลายชนิดเข้ามาใกล้หมู่บ้าน เช่น นกเงือกฝูงใหญ่ กวาง หมี และสุนัขป่า สำหรับที่บ้านถ้ำลอดมีการนำต้นกล้วยไม้ป่ามาปลูกเพิ่มบริเวณหน้าถ้ำลอด

ทางโครงการได้รับความร่วมมือจากชาวบ้านห้วยฮี้เก็บตัวอย่างต้นและดอกมาดองในแอลกอฮอล์ ในช่วงที่นักวิจัยไม่เข้าพื้นที่ โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนที่ดอกกล้วยไม้ดินบานและมีอายุดอกค่อนข้างสั้น จากการสำรวจ พบกล้วยไม้ป่ารวม 172 ชนิด ใน 61 สกุล จำแนกได้ 151 ชนิด ยังจำแนกไม่ได้ 21 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นตัวอย่างกล้วยไม้ที่ยังไม่มีในพิพิธภัณฑ์พืช 20 ชนิด ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการศึกษาด้านอนุกรมวิธาน

การพัฒนาสูตรอาหารโดยใช้ปุ๋ยกล้วยไม้รวมกับวิตามินไวเทอร่า ไม่ใส่น้ำมะพร้าวอ่อน และใช้กล้วยน้ำว้าแทนกล้วยหอม ได้สูตร **BRT1** สำหรับการเพาะเมล็ด และสูตร **BRT2** สำหรับเลี้ยงต้นกล้าให้แข็งแรง โดยเพิ่มมันฝรั่งบด พบว่าต้นกล้าเอื้องคำมีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับสูตร Vacin-Went และควรมีการพัฒนาสูตรอาหารเพื่อให้ได้สูตรอย่างง่ายที่เหมาะสมในเพาะเมล็ดกล้วยไม้ป่าชนิดอื่น ๆ เช่น ฟ้ามุ่ย เพื่อการอนุรักษ์และสร้างรายได้ในอนาคต

สำหรับแผนงานการขยายพันธุ์เอื้องคำโดยการเพาะเมล็ดให้ได้ต้นกล้า 10,000 ต้น นั้น พบว่าฝักเอื้องคำที่เก็บจากป่าแม่ฮ่องสอน เมล็ดงอกดีมาก ต้นอ่อนพัฒนาเร็วและแข็งแรง ชาวบ้านสามารถเลี้ยงลูกกล้วยไม้ด้วยวิธีธรรมชาติโดยรอดตายครึ่งหนึ่ง นับว่าประสบความสำเร็จขั้นต้น

การที่ชาวบ้านมีจิตสำนึกในการอนุรักษ์ต้นกล้วยไม้ให้อยู่ในป่า มีผลให้ลูกกล้วยไม้ป่างอกเพิ่มขึ้น จำนวนมาก และควรมีการถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ชาวบ้านในป่า เพื่อให้เขาสามารถ ขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้ป่าหายากให้มีจำนวนเพิ่มขึ้น อีกทั้งศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเรื่องการปลูก ลูกกล้วยไม้บนต้นไม้ในป่าให้รอดตายมากขึ้น ทั้งปัจจัยสภาพแวดล้อม และการเจริญเติบโตร่วมกับเชื้อราใน ระบบ symbiosis ผลจากการอนุรักษ์นี้จะก่อให้เกิดรายได้จากการท่องเที่ยวแบบยั่งยืน นอกจากนั้น แนวทางการวิจัยนี้ยังเป็นรากฐานที่สำคัญในการพัฒนาชนบทแบบพอเพียง สมควรขยายผลไปยังจังหวัดอื่น

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ 341001 และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนการวิจัยและค่าใช้จ่ายในการเดินทางไปเสนอผลงานวิจัยที่ประเทศญี่ปุ่น

## เอกสารอ้างอิง

จิตราพรรณ พิลึก. 2536. การเพาะเมล็ดและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

จิตราพรรณ พิลึก. 2538. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2538 โครงการอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ ด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ 1. การอนุรักษ์กล้วยไม้ป่าของไทย 1.1 การรวบรวมพันธุ์กล้วยไม้ไทยในสภาพปลอดเชื้อ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ฝ่ายวิชาการ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิตติ์. 2540. รายชื่อกล้วยไม้ไทย. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิตติ์ อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่.

ระพี สาคริก. 2516. การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

CITES Thailand. 1994. Annual Report 1993. Plant Introduction and conservation of wild Flora Sub-Division, Aggricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperaions.

Arditti, J. 1977. Niacin biosynthesis in germinating X *Laeliocattleya* orchid embryos and young seedlings. *Amer. J. Bot.* 54: 291-298.

Dressler, R.L. 1993. Phylogyny and classification of the orchid family.

Harrison C.R. and J. Arditti. 1978. Physiological changes during the germination of *Cattleya aurantiaca (Orchidology) Bot.Gaz.*139(2): 180-189.

Islam M. Obaidul, S. Matsui and S. Ichihashi. 1999. Effects of light quality on seed germination and seedling growth of *Cattleya* orchids *in vitro*. *Japan Soc. Hort. Sci.* 68(6): 1132-1138.

Seidenfaden, G. and T. Smitinand. 1965. *The orchids of Thailand*. Bangkok.

Seidenfaden G. 1982. Contribution to the orchid flora of Thailand X. *Nord.J. Bot.* 2: 193-128. Copenhagen.

Vacin, E.F. and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. *Bot.Gaz.* 110: 605-613

# การประเมินค่าทางเศรษฐศาสตร์ของป่าไม้: กรณีศึกษามูลค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ (non-use value) ของป่าไม้สักในอุทยานแห่งชาติแม่ยม จากการสร้างเขื่อนแก่งเสือเต้น

**สุธาวัลย์ เสถียรไทย[1] และเรณู สุขารมณ์[2]**

[1]สถาบันธรรมรัฐเพื่อการพัฒนาสังคมและสิ่งแวดล้อม (GSEI) 47/10 เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[2]คณะเศรษฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช อ.ปากเกร็ด นนทบุรี 11120

**Abstract: An Economic Valuation of Mae Yom National Park: The Case Study of Kaeng Sua Ten Water Resources Development**

The study identifies four major areas in which some useful economic valuation exercises can be carried out. These are: 1) Biological resources, which comprise a) Non-timber forest products (NTFPs) and b) Teak genetic resources; 2) Carbon sequestration; 3) Ecotourism and recreation and 4) the Non-use Value in terms of the unique ecosystem. The economic valuation of the first four components involves assessing the Use Value of Mae Yom Forest. The last component, however, focuses on the estimation of the existence and bequest value, which is the Non-use Value of the forest. Our survey discovered that the local communities have an annual income from the sale and consumption of 10 major NTFPs which adds up to 45 million baht. The estimated value of NTFPs is between 40-122 million baht per year, with Net Present Value (NPV) between 757-2,331 million baht (with a time span of 50 years and a discount rate of 5%). Furthermore, the forest can be an "insurance" for economic uncertainty, such as reduction in labor wages, etc. Mae Yom is also a source of teak genetic material as it is the largest teak forest left in Thailand. The NPV of Mae Yom in terms of a source of teak genetic is estimated to be 12-180 million baht, in terms of carbon sequestration is estimated at 48-915 million baht, as a source of ecotourism is estimated at approximately 786 million baht. The NPV of Mae Yom estimated as a Non-use value in terms of the unique ecosystem is approximately 2,178 million baht. Having accumulated all the Use Values of Mae Yom, the total NPV of the Use Value is 1,605-4,212 baht. As we add a Non-use Value of 2,178 million baht, the total NPV of Mae Yom is between 3,783-6,390 million baht. This will be the environmental cost if the Mae Yom forest is cut down to construct the KST water project.

**Key words:** non-timber forest products (NTFPs), economic valuation, biological resources

## บทนำ

ความแปรปรวนของสภาพดิน ฟ้า อากาศ การเกิดน้ำท่วมฉับพลัน การสูญเสียสัตว์ป่าหรือความหลากหลายทางชีวภาพล้วนเป็นผลกระทบจากการทำลายป่า ซึ่งสาเหตุหลักมีสองประการ คือ การทำลายโดยตรงเนื่องจากความต้องการพื้นที่ทางการเกษตรและการลักลอบตัดไม้ และ การทำลายโดยอ้อมเพราะต้องพัฒนาพื้นที่ป่าเป็นแหล่งน้ำ อ่างเก็บกักน้ำ เขื่อนผลิตกระแสไฟฟ้า และการตัดถนนสายต่างๆ ซึ่งโครงการพัฒนาเหล่านี้คุ้มกับการสูญเสียไปของทรัพยากรธรรมชาติหรือไม่ กระบวนการตัดสินใจจึงมีความจำเป็นที่ต้องเปรียบเทียบระหว่างประโยชน์กับความสูญเสียทางธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันวิชาการด้านเศรษฐศาสตร์มีวิธีประเมินมูลค่าทางเศรษฐศาสตร์ของทรัพยากรธรรมชาติ เพื่อนำไปคิดเป็นต้นทุนทางสิ่งแวดล้อมของโครงการพัฒนาต่างๆ ได้แล้ว

การก่อสร้างเขื่อนแก่งเสือเต้นเป็นโครงการพัฒนาลุ่มน้ำขนาดใหญ่ในเขตอุทยานแห่งชาติแม่ยม จังหวัดแพร่ โครงการดังกล่าวจะทำให้สูญเสียพื้นที่ป่าสักทองไปประมาณ 40,000 ไร่ สถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศไทย (TDRI พ.ศ.2540) จึงได้ศึกษาเพื่อวิเคราะห์ความเป็นไปได้ของโครงการ และสรุปว่า โครงการขาดความคุ้มค่า ให้ผลประโยชน์สุทธิในเชิงเศรษฐกิจติดลบ ต่อมาในปี พ.ศ. 2540 ทางทีมวิจัยนี้ภายใต้ศูนย์เศรษฐศาสตร์นิเวศ คณะเศรษฐศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยร่วมกับคณาจารย์จากหลายมหาวิทยาลัย และนักวิจัยจากองค์กร Resources for the Future (RFF) ของสหรัฐอเมริกา ทำการพัฒนาและนำเทคนิคการประเมินค่าสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรชีวภาพไปใช้ในการประเมินค่าทางเศรษฐศาสตร์ (economic valuation) ของป่าแก่งเสือเต้น โดยจุดมุ่งหมายของโครงการวิจัยนี้ คือ

การประเมินมูลค่าทางเศรษฐศาสตร์ของป่าไม้ที่จะสูญเสียไป ซึ่งเป็นผลกระทบทางนิเวศวิทยาของโครงการเขื่อนแก่งเสือเต้น มูลค่าที่ประเมินได้จะเป็นต้นทุนทางสิ่งแวดล้อมของโครงการดังกล่าว โดยมูลค่าทางเศรษฐศาสตร์สามารถจำแนกเป็นสองส่วนใหญ่ ๆ คือ มูลค่าของทรัพยากรที่มีการใช้ประโยชน์ (use value) และมูลค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ (non-use value) ของป่า ซึ่งรวมถึงมูลค่าของการที่ประชาชนต้องการเก็บรักษาป่าไว้เพื่อเป็นมรดกของประเทศและเพื่อลูกหลานสืบไปอีกด้วย โดยมูลค่าของทรัพยากรที่มีการใช้ประโยชน์นั้นแบ่งย่อยได้อีก 3 ด้าน คือ

1. การประเมินค่าป่าในการเป็นแหล่งทรัพยากรชีวภาพ (biological resources) โดยเน้นศึกษาเฉพาะการใช้ประโยชน์และประเมินมูลค่าของผลิตภัณฑ์ของป่าที่เก็บโดยชุมชนท้องถิ่น และการประเมินมูลค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของไม้สัก
2. การประเมินมูลค่าศักยภาพของป่าในการเป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon sequestration)
3. การประเมินมูลค่าของป่าในแง่การเป็นสถานที่พักผ่อนและการเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ (eco-tourism)

สำหรับในบทความนี้เป็นรายละเอียดของการประเมินค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ (Non-use vale) ของป่า ซึ่งมูลค่านี้สอดคล้องกับความสำคัญที่นักนิเวศวิทยา หรือนักอนุรักษ์ธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กล่าวถึงในแง่คุณค่าของป่าไม้ธรรมชาติ ซึ่งไม่ได้มีเฉพาะมูลค่าในเชิงเศรษฐกิจ หรือการใช้ประโยชน์แต่เพียงอย่างเดียว หากยังมีมูลค่าในด้านจิตวิญญาณที่มนุษย์ยังต้องการที่จะรักษาธรรมชาติไว้เพื่อความภาคภูมิใจ และเป็นมรดกให้ลูกหลานสืบไป

**มูลค่ารวมทางเศรษฐศาสตร์ (Total Economic Value) ของป่าธรรมชาติ**

การประเมินมูลค่าทางเศรษฐศาสตร์แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1. กลุ่มนักเศรษฐศาสตร์ (TDRI 2543) เสนอให้วัดมูลค่ารวมทางเศรษฐศาสตร์ (total economic value) ของทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1.1 *มูลค่าที่เกิดจากการใช้ประโยชน์ (use value)* เป็นการวัดประโยชน์ที่เป็นรูปธรรมต่อประชาชน ยังแบ่งได้เป็น 2 ส่วนย่อย ๆ คือ

1.1.1 *มูลค่าที่เกิดจากการใช้โดยตรง (Direct use value)* คือ มูลค่าจากการที่ประชาชนในฐานะผู้บริโภคได้รับประโยชน์โดยตรงจากทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เช่น การเก็บของป่ามาขายและบริโภคในครัวเรือน การเที่ยวอุทยานแห่งชาติ คุณภาพของอากาศ น้ำ ระดับกลิ่น ระดับเสียงที่กระทบต่อคุณภาพชีวิตของมนุษย์ เป็นต้น

1.1.2 *มูลค่าที่เกิดจากการใช้โดยอ้อม (Indirect use value)* คือ มูลค่าจากการที่สิ่งแวดล้อมทำหน้าที่เป็นปัจจัยการผลิตหรือระบบนิเวศมีผลต่อกิจกรรมทางเศรษฐกิจของมนุษย์ และให้ประโยชน์ต่อประชาชนโดยผ่านทางกระบวนการผลิต เช่น มีป่าไม้ช่วยดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นการลดปัญหาภาวะเรือนกระจก หรือคุณภาพน้ำในแม่น้ำที่สะอาดช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการนำน้ำดิบมาใช้ทำน้ำประปาในเขตกรุงเทพมหานคร หรือคุณภาพน้ำดีช่วยเอื้อประโยชน์ต่อการทำนากุ้ง เป็นต้น

1.2 *มูลค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ (non-use value)* คือ มูลค่าจากการที่ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมให้ประโยชน์ต่อประชาชนในแง่ของจิตใจ นามธรรม เพราะเกิดความรู้สึกที่ดีที่ทราบว่าทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมยังคงดำรงอยู่ และเป็นมรดกตกทอดไปสู่รุ่นลูกหลาน มูลค่านี้มีสองส่วน คือ

1.2.1 *มูลค่าที่ทรัพยากรธรรมชาติดำรงอยู่ (existence value)* คือ มูลค่าที่เกิดจากการที่ประชาชนเกิดความภาคภูมิใจ เมื่อทราบว่าทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอยู่ในสภาพที่ดี เช่น การอนุรักษ์ป่าสักทอง การอนุรักษ์เต่าทะเล ช้าง หรือสัตว์สงวนอื่น ๆ เป็นต้น

1.2.2 *มูลค่าเชิงมรดก (bequest value)* คือ มูลค่าที่เกิดจากการที่ประชาชนทราบว่าทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอยู่ในสภาพที่ดี เป็นมรดกสืบต่อไปจนถึงรุ่นลูกหลาน

1.3 *มูลค่าเผื่อใช้ในอนาคต (option value)* คือ การที่ประชาชนไม่ได้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมในรูปแบบ use value หรือ non-use value ในปัจจุบัน แต่คาดว่าจะมีโอกาสได้ใช้ประโยชน์ในอนาคต

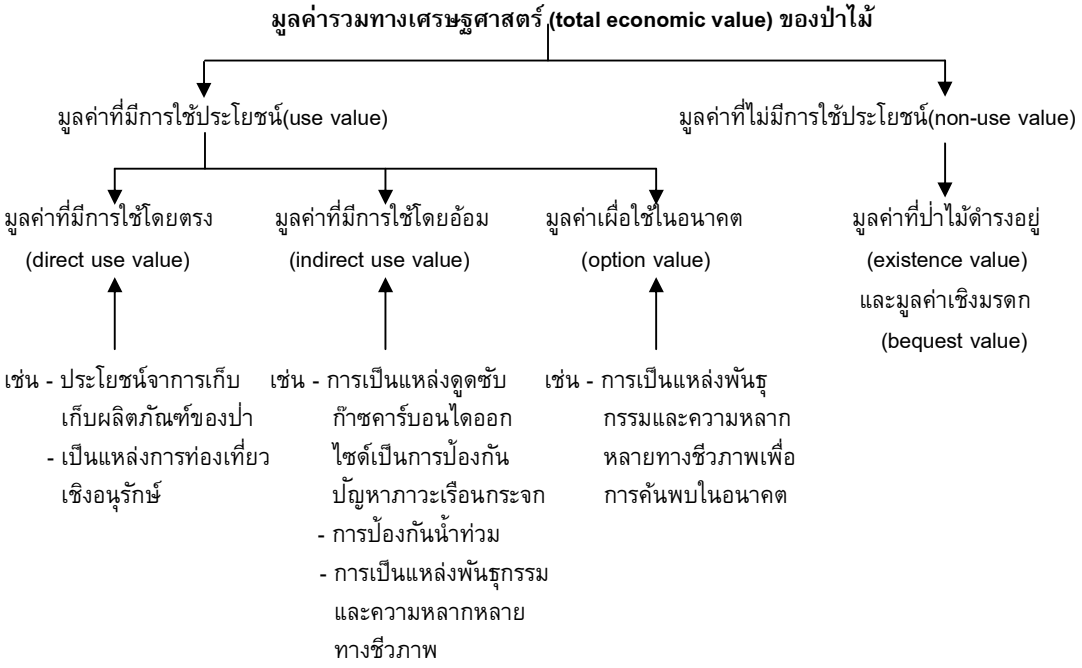
2. กลุ่ม (Barbier, 1993; Mitchell and Carson, 1989) มีแนวคิดว่า การจำแนกประเภทย่อยมากจะไม่ให้ประโยชน์ ทำให้เกิดความสับสน จึงเสนอให้รวมเอามูลค่าเผื่อใช้ไว้ในมูลค่าไม่มีการใช้ประโยชน์

ดังนั้นจึงอาจสรุปสองแนวคิดสำหรับการวัดมูลค่ารวมทางเศรษฐศาสตร์ของทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ในกรอบที่หนึ่งและสองต่อไปนี้

กรอบที่ 1: มูลค่ารวมทางเศรษฐศาสตร์ = มูลค่าที่มีการใช้ประโยชน์ + มูลค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ + มูลค่าเผื่อใช้

กรอบที่ 2: มูลค่ารวมทางเศรษฐศาสตร์ = มูลค่าที่มีการใช้ประโยชน์ + มูลค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์

สำหรับงานวิจัยชิ้นนี้ใช้แนวทางในกรอบที่สองเป็นหลักดังแผนภูมิต่อไปนี้ (ปรับจาก Barbier (1993))




**สรุปมูลค่าที่มีการใช้ประโยชน์ (Use Value) ของป่าแก่งเสือเต้น**

โครงการวิจัยฯ แบ่งการประเมินมูลค่าที่มีการใช้ประโยชน์ของป่าแก่งเสือเต้นออกเป็น 3 ส่วน คือ มูลค่าในเชิงเป็นแหล่งทรัพยากรชีวภาพ มูลค่าในเชิงเป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และมูลค่าในเชิงเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ซึ่งศูนย์เศรษฐศาสตร์นิเวศ (2543) สามารถสรุปผลการประเมินได้ดังนี้

1. การประเมินมูลค่าป่าแก่งเสือเต้นในการเป็นแหล่งทรัพยากรชีวภาพ

1.1 *การประเมินมูลค่าการใช้ผลิตภัณฑ์ของป่าแก่งเสือเต้นโดยชุมชน*

การเก็บผลิตภัณฑ์ของป่านานาชนิดเพื่อขายและบริโภคในครัวเรือน โดยทำการสำรวจภาคสนามในพื้นที่ที่จะถูกน้ำท่วมซึ่งประกอบด้วยหมู่บ้าน 11 แห่ง จำนวน 2,134 ครัวเรือน เพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์ของป่าและรายได้ที่ชุมชนได้รับจากการขายผลิตภัณฑ์ของป่า แบ่งการสำรวจออกเป็น 2 ส่วน คือ การสำรวจเพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์จากป่าโดยชุมชนท้องถิ่น และการสำรวจเพื่อประเมินรายได้สุทธิจากการเก็บผลิตภัณฑ์ของป่า

ในการสำรวจการใช้ประโยชน์ของป่านั้น ได้กำหนดมาตรฐานในการคัดเลือกผลิตภัณฑ์ของป่าที่สำคัญ คือ 1) การมีอยู่ทั่วไป และมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง 2) การมีผลผลิตสูง และ 3) การมีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง ทำให้ได้พืชเศรษฐกิจ 10 ชนิด (เห็ดหล่ม เห็ดไข่ห่านเหลือง เห็ดเพาะ เห็ดลม หน่อดอย หน่อบง หน่อไร่ ผักหวาน ผักพ่อค้าตีเมีย และไข่มด) จากข้อมูลที่เก็บได้ นำมาคำนวณโดยวิธีการทางบัญชี (simple accounting approach) คือ รวมรายได้ทั้งหมด นำราคาไปคูณด้วยปริมาณที่เก็บได้แล้วหักต้นทุนในการเก็บออก จะพบว่ารายได้สุทธิจากการเก็บผลิตภัณฑ์ของป่าจากป่าแก่งเสือเต้นในบริเวณที่จะถูกน้ำท่วมจากการก่อสร้างเขื่อนมีมูลค่าประมาณ 45 ล้านบาทต่อปี หรือครัวเรือนละ 21,116 บาทต่อปี

อย่างไรตาม การประเมินมูลค่าทางเศรษฐกิจในการเป็นแหล่งผลิตภัณฑ์ของป่านั้น ในทางทฤษฎีจะวัดจากมูลค่าที่ลดลงของสวัสดิการทางเศรษฐกิจ (net economic welfare loss) เมื่อพื้นที่ป่าบางส่วนสูญเสียไป โดยคำนวณในรูปของมูลค่าหน่วยสุดท้าย (marginal value) ซึ่งการประเมินค่าดังกล่าวจำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยทางเศรษฐกิจอื่นๆ ด้วย เช่น ความสามารถในการเก็บผลิตภัณฑ์ของป่าทดแทนจากบริเวณอื่น และความยืดหยุ่นของอุปสงค์ของผลิตภัณฑ์ของป่า เป็นต้น เนื่องจากมีข้อจำกัดด้านข้อมูล การประเมินมูลค่าในทางเศรษฐศาสตร์ของส่วนนี้ ดร.เดวิด ซิมป์ซัน จากองค์การ Resource for The Future ได้พัฒนาแบบจำลองและใช้การวิเคราะห์ความอ่อนไหว (sensitivity analysis) โดยอาศัยข้อมูลรายได้สุทธิที่ได้ดังกล่าว คำนวณได้มูลค่าทางเศรษฐกิจอยู่ระหว่าง 40 ถึง 122 ล้านบาทต่อปี ซึ่งเมื่อคิดเป็นมูลค่าปัจจุบัน (net present value: NPV) ในช่วงเวลา 50 ปี ด้วยอัตราส่วนลดร้อยละ 5 (เพื่อเปรียบเทียบกับโครงการแก่งเสือเต้น) ปรากฏว่ามูลค่าปัจจุบันของป่าแก่งเสือเต้น ในการเป็นแหล่งผลิตภัณฑ์ของป่า มีค่าระหว่าง 759 ถึง 2,331 ล้านบาท (ตารางที่ 3)

1.2 *การประเมินมูลค่าป่าแก่งเสือเต้นในเชิงความหลากหลายทางพันธุกรรมไม้สัก*

มูลค่าของพันธุกรรมไม้สักสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน คือ 1) มูลค่าการใช้ประโยชน์ในปัจจุบัน (current use value) ซึ่งประเมินได้จากประโยชน์ทางเศรษฐกิจที่ได้รับในปัจจุบัน (present economic gain) จากการปรับปรุงพันธุ์ไม้สักโดยมีป่าแก่งเสือเต้นเป็นแหล่งวัตถุดิบ การประเมินนี้เน้นการปรับปรุงคุณสมบัติของไม้เฉพาะด้านการค้า (commercial traits) เช่น ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง และความสูง เป็นต้น และ 2) มูลค่าเผื่อใช้ในอนาคต (option value) คือ การที่พันธุ์ไม้สักสามารถดำรงอยู่ได้ในสภาวะธรรมชาติของสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปในอนาคต

ในทางเศรษฐศาสตร์มูลค่าที่ได้จากการประเมินค่าแหล่งพันธุกรรมไม้สักจะไม่ใช่มูลค่าทั้งหมด แต่เป็นมูลค่าที่เพิ่มขึ้นจากการมีแหล่งพันธุกรรมที่มีความเสี่ยงในการสูญเสีย ซึ่งในที่นี้คือ ป่าแก่งเสือเต้น ในการศึกษานี้ได้ใช้แนวคิดที่ว่า มูลค่าของทรัพยากรชีวภาพจะประเมินได้จากการที่เมื่อมีการเพิ่มหน่วยสุดท้าย (marginal value) ของทรัพยากรชีวภาพจะมีผลทำให้มูลค่าสุทธิของสวัสดิการทางเศรษฐกิจ (economic welfare) เพิ่มขึ้นเป็นเท่าใด

เนื่องจากการประเมินมูลค่าของพันธุกรรมโดยตรงทำได้ยาก เพราะไม่มีข้อมูลด้านพันธุกรรมเพียงพอ จึงจำเป็นต้องประเมินผ่านคุณสมบัติที่สำคัญของไม้สักที่เป็นผลมาจากพันธุกรรมอีกทีหนึ่ง ในที่นี้อาศัยข้อมูลจากการทดสอบถิ่นกำเนิด (provenance trial) มูลค่าทางการค้าของไม้สักขึ้นอยู่กับคุณลักษณะเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของไม้สัก เช่น สี ความแข็งแรง และปริมาตร เป็นต้น จากข้อจำกัดของข้อมูลด้านคุณลักษณะของไม้สักดังกล่าว การศึกษานี้จึงใช้ปริมาตรทางการค้าเป็นดัชนีในการวัดมูลค่าของไม้สักเพียงอย่างเดียว ในการศึกษามี 2 แนวทาง คือ

1) เป็นการศึกษาของ ดร. เดวิด ซิมป์ซัน จากองค์กร Resources for the Future ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้สร้างแบบจำลองทางเศรษฐศาสตร์ขึ้นมา เน้นการประเมินมูลค่าในอนาคต โดยพิจารณาจากประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการมีป่าแก่งเสือเต้นเป็นแหล่งวัตถุดิบของสารพันธุกรรม จากการที่กำหนดให้ป่าแก่งเสือเต้นและป่าอื่นๆ มาจากการกระจายค่าทางสถิติชุดเดียวกัน เนื่องมาจากสมมติฐานที่ว่า ในอนาคตสิ่งแวดล้อมอาจเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะที่ทำให้การปรับตัวของต้นสักจากถิ่นกำเนิดที่ต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันได้ ดังนั้น การที่ป่าแก่งเสือเต้นถูกทำลายไป จึงก่อให้เกิดผลกระทบต่อผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการปรับปรุงพันธุ์สักน้อยมาก กล่าวคือ มูลค่าของป่าแก่งเสือเต้นในการเป็นแหล่งพันธุกรรมไม้สักจะมีค่าต่ำมาก อย่างไรก็ตาม การศึกษาในแนวทางนี้มีข้อจำกัด คือ แบบจำลองไม่สามารถนำไปใช้กับข้อมูลที่มีความแปรปรวนสูง กล่าวคือ ค่าความแปรปรวนสูงแสดงถึงแนวโน้มที่ต้นสักจากป่าแก่งเสือเต้นจะมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง การศึกษาของดร.ซิมป์ซันนั้นเน้นการพัฒนาแนวทางการศึกษา มากกว่าที่จะให้ได้คำตอบที่แน่นอนลงไป ทั้งนี้ เพื่อที่จะสามารถนำแบบจำลองดังกล่าวไปปรับใช้สำหรับการศึกษาอื่นๆ ที่มีข้อมูลที่สามารถสร้างดัชนีชี้วัดคุณสมบัติทางการค้าที่สมบูรณ์ ซึ่งยังไม่สามารถใช้ได้ในงานวิจัยชิ้นนี้

2) เป็นการศึกษาของ ดร. อิศรา ศานติศาสน์ คณะเศรษฐศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นการประเมินมูลค่าความหลากหลายของพันธุกรรมไม้สักในปัจจุบัน ใช้วิธีทางสถิติที่เรียกว่า มอนติ คาร์โล (Monte Carlo) มาทดสอบถิ่นกำเนิด 30 แห่ง โดยการจำลองสถานการณ์การปลูกต้นสักจำนวน 100 ต้น จากแต่ละถิ่นกำเนิด และเปรียบเทียบมูลค่าที่ได้ระหว่างกรณีที่มีและไม่มีป่าแก่งเสือเต้น การศึกษาใช้ข้อมูลจริงจากการทดสอบถิ่นกำเนิดของต้นสักที่มีอายุ

22 ปี ซึ่งพบว่า กรณีไม่มีป่าแก่งเสือเต้น ปริมาตรของต้นสักโดยรวมเฉลี่ยจะลดลง แสดงว่าป่าแก่งเสือเต้นมีความสำคัญในแง่ของความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งสามารถวัดมูลค่าปัจจุบันออกมาได้

ในการศึกษานี้ใช้มูลค่าที่ประเมินได้ตามแนวทางที่ 2 เป็นหลัก ผลการประเมินมูลค่าทางเศรษฐกิจในรูปมูลค่าปัจจุบันอยู่ระหว่าง 12 ถึง 180 ล้านบาท (ตารางที่ 3)

2. *การประเมินมูลค่าการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์*

ป่าไม้มีอิทธิพลต่อปริมาณความหนาแน่นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ ป่าจะช่วยดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ผ่านการสะสมของมวลชีวภาพของต้นไม้ในพื้นดิน จากนั้นจึงปล่อยออกมาเนื่องจากการเน่าเปื่อยผุพังของมวลชีวภาพ (การหายใจ) และ/หรือการเผาไหม้ การศึกษานี้มุ่งเน้นถึงปริมาณการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่กักเก็บอยู่ในมวลชีวภาพของต้นไม้ในป่า รวมถึงผลกระทบจากการตัดป่าในการก่อสร้างเขื่อนที่มีต่อปริมาณการกักเก็บก๊าซดังกล่าว โดยให้ความสำคัญกับผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ป่าและตัดไม้ไปทำเป็นผลิตภัณฑ์ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่เกิดจากการก่อสร้างเขื่อนและการก่อสร้างสาธารณูปโภคพื้นฐานอื่นๆ จะไม่ได้นำมาพิจารณา ในการศึกษานี้พิจารณาเฉพาะต้นไม้ ซากพืชและใบไม้ที่ทับถมอยู่ และตั้งสมมติฐานว่าปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในดินจะไม่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากการก่อสร้างเขื่อน แนวคิดในการประเมินค่าป่าแก่งเสือเต้นในการเป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มี 2 แนวคิด คือ

1) เป็นแนวคิดของ ดร. เซ็ดโจ้ จากองค์กร Resources for the Future ประเมินมูลค่าการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของป่าแก่งเสือเต้น โดยเปรียบเทียบปริมาณก๊าซทั้งก่อนและหลังการก่อสร้างเขื่อน เพื่อประเมินค่าการเปลี่ยนแปลงของก๊าซสุทธิ แล้วทำการประเมินมูลค่าทางการเงินของก๊าซที่ปล่อยออกมาจากการทำลายป่า จากการศึกษาพบว่า การปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เกิดขึ้นใน 2 ระยะ คือ (1) การปล่อยก๊าซในระยะแรก (1-2 ปี) ซึ่งเกิดจากการที่มวลชีวภาพได้ถูกทำลายไปจากการถางป่าเพื่อเตรียมพื้นที่สำหรับการก่อสร้างเขื่อน คิดเป็น 466,551 เมตริกตันคาร์บอนฯ (2) การปล่อยก๊าซในระยะยาว เกิดจากการปล่อยก๊าซของผลิตภัณฑ์ไม้ที่ถูกตัดในพื้นที่ของโครงการ ผ่านการเสื่อมสภาพ การเน่าเปื่อยผุผัง และการเผาไหม้ คิดเป็น 1,878 เมตริกตันคาร์บอนฯ ต่อปี

2) เป็นแนวคิดของ ดร. ลดาวัลย์ พวงจิตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ใช้การประเมินมูลค่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยวิธี Empirical Hyperbolic Function ซึ่งประเมินปริมาณมวลชีวภาพในบริเวณที่จะเกิดน้ำท่วมจากการก่อสร้างเขื่อนแก่งเสือเต้น โดยประเมินจากปริมาณก๊าซที่มีอยู่ในพันธุ์พืชและดิน จากการศึกษาพบว่า การปล่อยก๊าซในระยะแรกคิดเป็น 336,547 เมตริกตันคาร์บอนฯ และการปล่อยก๊าซในระยะยาวคิดเป็น 1,384 เมตริกตันคาร์บอนฯ ต่อปี

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้มูลค่าของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ 10 เหรียญสหรัฐ ฯ ต่อเมตริกตันคาร์บอนฯ ซึ่งกำหนดโดยกองทุนสิ่งแวดล้อม (Global Environment Facility: GEF) ในการประเมินมูลค่าประโยชน์ที่สังคมจะได้รับจากการคงอยู่ของป่าในการเป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าป่าแก่งเสือเต้นมีมูลค่าปัจจุบันในการเป็นแหล่งดูดซับก๊าซระหว่าง 48–915 ล้านบาท (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ ในการศึกษาได้กล่าวถึงการประเมินค่าการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่เกิดจากการก่อสร้างโรงไฟฟ้าพลังน้ำขนาดเล็กน้ำสานไว้ด้วย แต่ไม่ได้ทำการประเมินค่าเป็นตัวเลข

3. *การประเมินมูลค่าของป่าในด้านการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ*

อุทยานแห่งชาติแม่ยมมีป่าไม้ที่มีความอุดมสมบูรณ์ ไม่ว่าจะเป็นป่าดิบผสมผลัดใบ ป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง ป่าไผ่ หรือป่าสักที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในประเทศไทย นอกจากนี้ ในเขตอุทยานยังเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์ป่าหายากจำนวนมาก เช่น นกลุมพู นกยูง หมาใน และช้าง เป็นต้น จึงทำให้มีศักยภาพในการเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศได้ในอนาคต งานวิจัยนี้จึงประเมินมูลค่าที่ได้รับจากการจัดการท่องเที่ยวเชิงนิเวศที่จะมีขึ้นในอนาคต โดยมีการตั้งสมมติฐานไว้ 3 ข้อ คือ 1) ลักษณะความเป็นป่าสักธรรมชาติเป็นปัจจัยสำคัญที่นักท่องเที่ยวใช้ในการตัดสินใจเดินทางไปท่องเที่ยวเชิงนิเวศ 2) ชาวต่างชาติน่าจะประเมินมูลค่าของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศสูงกว่าคนไทย และ 3) มูลค่าทางเศรษฐศาสตร์ของอุทยานแห่งชาติแม่ยมมีค่าเป็นบวกสำหรับการจัดการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ

การประเมินมูลค่าในครั้งนี้ เป็นการประเมินในแง่การท่องเที่ยวเชิงนิเวศที่ยังไม่ได้เกิดขึ้นจริง จึงจำเป็นต้องเริ่มจากการคิดลักษณะของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศที่เป็นไปได้ในรูปแบบต่าง ๆ กัน โดยมีการระบุชัดเจนว่า ในแต่ละรูปแบบนั้นมีระยะเวลาที่ใช้ในการท่องเที่ยว จำนวนนักท่องเที่ยวต่อกลุ่ม ตารางเวลากิจกรรมของแต่ละวัน และค่าใช้จ่ายทั้งหมดที่เกิดขึ้นเป็นอย่างไร จากนั้นคำนวณขีดความสามารถในการรองรับนักท่องเที่ยว เพื่อพิจารณาว่าในแต่ละกิจกรรมสามารถรองรับได้กี่คนต่อปี ขั้นต่อไป เป็นการประเมินมูลค่าผลที่ได้ โดยนำมูลค่าผลประโยชน์ที่ได้รับจากการท่องเที่ยวมาหักต้นทุนค่าเสียโอกาสซึ่งประกอบด้วย ต้นทุนการจัดการท่องเที่ยวของบริษัทผู้จัดบริการนำเที่ยว และต้นทุนการประชาสัมพันธ์และสนับสนุนการท่องเที่ยวของหน่วยงานราชการ[1]

วิธีวิจัยที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ วิธีการประเมินความแตกต่างของอรรถประโยชน์ซึ่งสำรวจจากการสัมภาษณ์โดยใช้คำถามปลายปิด (Utility Difference Close-ended WTP) ข้อมูลที่ได้นำมาคำนวณในรูปตัวแปร โดยใช้ฟังก์ชันอรรถประโยชน์ทางอ้อม (Indirect Utility Function) *V (P, M, Q, S)* โดยที่ระดับของอรรถประโยชน์ทางอ้อมของผู้บริโภคขึ้นอยู่กับราคาของการท่องเที่ยว (P), รายได้ (M), คุณภาพของสถานที่ท่องเที่ยว (Q) และลักษณะทางสังคมอื่นๆ ของผู้บริโภค (S) ผู้สัมภาษณ์จะอธิบายโปรแกรมการท่องเที่ยว ซึ่งทีมวิจัยสมมติขึ้นอย่างละเอียดพร้อมกับแสดงรูปประกอบ โดยถามว่า ราคาเท่านี้ เต็มใจที่จะจ่ายเพื่อเดินทางไปท่องเที่ยวหรือไม่ คำตอบจะมีให้เลือกเพียงสองคำตอบ คือ “ใช่” กับ “ไม่ใช่” เท่านั้น โดยผู้ให้สัมภาษณ์แต่ละคนจะตัดสินใจเพียงแค่ระดับราคาเดียว ซึ่งแต่ละคนจะถูกสุ่มถามด้วยราคาที่แตกต่างกันไป โดยราคาจะอยู่ในช่วง 2,000-6,000 บาท

ในการออกสำรวจจริง ก่อนจะถามคำถามที่เตรียมไว้ ผู้ช่วยนักวิจัยได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับสถานที่ท่องเที่ยวอื่นๆ ที่นักท่องเที่ยวสามารถเลือกจะไปได้ แทนที่จะไปอุทยานแห่งชาติแม่ยม คำถามระบุชัดเจนว่า เต็มใจจะจ่ายเพื่อเดินทางมาเที่ยวที่นี่อย่างน้อย 1 ครั้งในระยะเวลา 5 ปี นับจากนี้หรือไม่ และผู้ให้สัมภาษณ์แต่ละคนจะได้รับโจทย์คำถามต่างกัน กล่าวคือ บางคนที่ได้รับเลือก ผู้ช่วยนักวิจัยอาจถามในกรณีของป่าไม้ธรรมดา และบางคนจะได้รับคำถามในกรณีที่เป็นป่าไม้สักทอง ทั้งนี้เพื่อประเมินค่าความสำคัญของการเป็นป่าไม้สักทองและทดสอบสมมติฐานที่ว่า คุณลักษณะความเป็นป่าสักนั้นจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้นักท่องเที่ยวสนใจเดินทางมาท่องเที่ยวหรือไม่ กลุ่มเป้าหมายของการศึกษาครั้งนี้ คือ นักท่องเที่ยวเชิงนิเวศ แต่ผู้วิจัยไม่สามารถทราบว่า ใครคือนักท่องเที่ยวเชิงนิเวศ จึงตั้งสมมติฐานว่านักท่องเที่ยวเชิงนิเวศน่าจะเป็นผู้ที่มีระดับรายได้มากพอที่จะจ่ายเพื่อการท่องเที่ยวเชิงนิเวศซึ่งมีราคาค่อนข้างแพงได้ จึงเลือกสัมภาษณ์ผู้ที่คาดว่าจะมีรายได้มากกว่า 20,000 บาทต่อเดือน โดยใช้สถานที่ในการสุ่มสัมภาษณ์บริเวณที่มีการสัญจรไปมา สามารถสุ่มสาธารณชนทั่วไปจำนวน 500 ตัวอย่าง เป็นคนไทย 300 ตัวอย่าง และชาวต่างชาติ 200 ตัวอย่าง

ผลการวิเคราะห์บ่งชี้ว่า ตัวแปรที่มีผลต่อการตัดสินใจที่จะจ่ายเงินเพื่อการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในอุทยานแห่งชาติแม่ยม มีดังนี้ ตัวแปรแสดงราคา (ค่าใช้จ่ายทั้งหมด) ของการไปเที่ยวมีความสัมพันธ์เชิงลบ ตัวแปรแสดงความเป็นป่าสักมีความสัมพันธ์เชิงบวก และตัวแปรแสดงระดับการศึกษามีความสัมพันธ์เชิงบวกเช่นเดียวกัน จากแบบจำลองนี้ สามารถนำมาหาความเต็มใจที่จะจ่าย เฉลี่ย (mean WTP) ต่อการท่องเที่ยวเชิงนิเวศที่สมมติขึ้นมาในแต่ละครั้งในเขตป่าสักได้เท่ากับ 6,318 บาท ต่อคนต่อครั้ง หากเป็นการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในเขตป่าธรรมดา ผู้บริโภคเต็มใจจะจ่ายเพียง 5,514 บาทต่อคนต่อครั้ง ซึ่งเท่ากับว่า ป่าสักมีมูลค่าการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเท่ากับ 804 บาทต่อคนต่อการมาเที่ยว 1 ครั้ง การที่นักท่องเที่ยวเต็มใจจ่ายเพื่อมาเที่ยวเชิงนิเวศป่าสักแต่ละครั้งเท่ากับ 6,318 บาท ในขณะที่ต้นทุนของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศที่เกิดขึ้นแต่ละครั้งเท่ากับ 4,000 บาทต่อคน มูลค่าทางเศรษฐศาสตร์จึงมีค่าเท่ากับส่วนต่างของค่าทั้งสอง คือ ประมาณ 2,318 บาท

เมื่อคำนึงถึงขีดความสามารถในการรองรับนักท่องเที่ยวของอุทยานแห่งชาติแม่ยม ซึ่งประมาณการได้เท่ากับ 22,000 คนต่อปี มูลค่าทางเศรษฐศาสตร์ของการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเท่ากับ 50,996,000 บาทต่อปี หรือประมาณ 50 ล้านบาทต่อปี ถ้าสมมติว่า หน่วยงานราชการต้องใช้งบประมาณในการประชาสัมพันธ์และสนับสนุนการท่องเที่ยว ปีละ

[1] ส่วนต้นทุนค่าเสียโอกาสที่ไม่สามารถนำพื้นที่ไปใช้ในกิจกรรมทางเศรษฐกิจอื่นๆ นั้น จะนำไปหักออกจากผลประโยชน์รวมในทุกๆ ด้านของอุทยานแห่งชาติแม่ยมในตอนสุดท้ายครั้งเดียว เพื่อป้องกันการคิดซ้ำ

10 ล้านบาท มูลค่าทางเศรษฐศาสตร์สุทธิมีมูลค่าประมาณ 40 ล้านบาทต่อปี มูลค่าปัจจุบันสุทธิ (net present value) ของศักยภาพในการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในเขตอุทยานแห่งชาติแม่ยมในระยะเวลา 50 ปี โดยใช้อัตราส่วนลด (discount rate) ร้อยละ 5 จะมีมูลค่าเท่ากับ 786 ล้านบาทต่อปี (ตารางที่ 3)

## การประเมินมูลค่าที่ไม่มีการใช้ (Non-Use Value) ของป่าแก่งเสือเต้น ด้วยวิธีการสมมติเหตุการณ์ให้ประเมินค่า (CVM)[2]

มูลค่าที่ไม่มีการใช้ (non-use value) ของทรัพยากรประกอบด้วย 2 ส่วน ส่วนแรก คือ มูลค่าที่คงอยู่ (existence value) ซึ่งเป็นมูลค่าที่ประชาชนมีต่อป่าแก่งเสือเต้น เพราะพึงพอใจที่ประเทศไทยมีป่าสักธรรมชาติที่ยังคงสภาพอยู่โดยไม่ถูกทำลาย และส่วนที่ 2 คือ มูลค่าเชิงมรดก (bequest value) เพราะประชาชนในรุ่นนี้มิได้ใช้ประโยชน์ สมควรเก็บรักษาไว้ให้รุ่นต่อๆ ไปได้ร่วมกันเป็นเจ้าของ

การวิจัยส่วนนี้เน้นประเมินมูลค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ โดยการสำรวจภาคสนามด้วยวิธีประเมินค่าแบบมีเงื่อนไขที่สมมติขึ้นเพื่อให้ผู้ตอบคำถามเปิดเผยค่าที่ไม่เคยระบุไว้ที่ไหน (Contingent Valuation Method) หรือที่เรียกว่า วิธี CVM ผู้ช่วยวิจัยทำการสัมภาษณ์ เพื่อให้ผู้ตอบตัดสินใจว่า เขาเต็มใจจะร่วมบริจาคสนับสนุนการจัดตั้งกองทุนเพื่ออนุรักษ์ป่าสักในเขตอุทยานแห่งชาติแม่ยมเป็นเงินเท่าใด ซึ่งจะทำเพียงครั้งเดียวในชีวิตของเขา ผู้ตอบแบบสอบถามทุกคนต้องไม่เคยไปเที่ยวอุทยานแห่งชาติแม่ยมมาก่อน และไม่เคยได้ใช้ประโยชน์โดยตรงจากป่านี้มาก่อนเช่นกัน ทั้งนี้เพื่อให้คำตอบที่ได้เป็นมูลค่าที่มิได้ใช้ประโยชน์อย่างแท้จริง[3] ในแบบสอบถามจะมีข้อมูลจริงเกี่ยวกับป่าสักในเขตอุทยานฯ และสมมติการบริจาคขึ้นโดยใช้คำถามปลายปิดที่มีการเสนอราคา 2 ครั้ง นอกจากนี้ยังมีคำถามเกี่ยวกับข้อมูลด้านเศรษฐกิจ-สังคมของผู้ให้สัมภาษณ์อีกด้วย ทั้งนี้จำนวนตัวอย่างในการสัมภาษณ์ คือ 915 ตัวอย่าง จาก 5 ภูมิภาคของประเทศไทย

วิธีการตั้งคำถามปลายเปิดและเสนอราคา 2 ครั้งนี้ เรียกว่า Double Bounded Closed-ended หรือ Discrete-response Format หรือ Dichotomous Referendum Format ข้อมูลที่ได้รับสามารถนำมาหารูปแบบฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นสะสม (cumulative distribution function หรือ c.d.f.) จากนั้นนำไปคำนวณหาค่าเฉลี่ยของ WTP และค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย WTP ได้ โดยราคาที่นำเสนอในการบริจาคนั้นมาจากการทดสอบแบบสอบถามจำนวน 60 ตัวอย่าง ที่จังหวัดชลบุรี ซึ่งมีผลิตภัณฑ์เบื้องต้นในจังหวัดต่อหัวสูงที่สุดในประเทศ และจังหวัดศรีสะเกษซึ่งมีผลิตภัณฑ์เบื้องต้นในจังหวัดต่อหัวเกือบต่ำสุดของประเทศ จำนวนเงินบริจาคที่มีความถี่สูงสุด 4 อันดับแรกจะนำมาใช้ในการเสนอราคาเพื่อการบริจาคในการสัมภาษณ์จริง จากการสำรวจภาคสนามทั้ง 12 จังหวัดที่เป็นตัวแทนของประเทศไทย โดยในแต่ละภาคจะเลือก 2 จังหวัด ที่มีรายได้เฉลี่ยต่อหัวสูงที่สุดและต่ำที่สุด ยกเว้นกรุงเทพมหานครที่ไม่ถือว่าเป็นตัวแทนของภาคกลาง เพราะเป็นจังหวัดที่มีความหลากหลายด้านประชากรมาก หาคนท้องถิ่นดั้งเดิมได้ยากเนื่องด้วยเป็นศูนย์กลางของโอกาสการมีงานทำ และสถิติสำมะโนประชากรไม่ตรงกับความจริงนัก

***การเตรียมแบบสอบถาม CVM***

การสำรวจภาคสนามด้วยการสมมติเหตุการณ์เพื่อให้ผู้ตอบประเมินเป็นหัวใจหลักสำคัญของการศึกษา CVM แบบสอบถามควรมีอย่างน้อย 3 ส่วนดังนี้ (อาจสลับลำดับก่อนหลังได้)

1. *รายละเอียดเกี่ยวกับป่าสักอุทยานแห่งชาติแม่ยม* ที่ต้องการประเมินค่าที่มิได้ใช้ (non-use value) แล้วให้ผู้ตอบเปิดเผยมูลค่าความเต็มใจจ่าย (willingness to pay หรือ WTP) โดยใช้คำถามแบบปลายปิดที่เรียกว่า CVM Referendum ถามความเต็มใจที่จะร่วมบริจาคเงินเข้าร่วมกองทุนของมูลนิธิอนุรักษ์ไม้สักของป่าแม่ยม โดยเป็นการบริจาคเพียงครั้งเดียวในชีวิต

---

[2] การประเมินค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ของป่าแก่งเสือเต้นในส่วนนี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการพลังงานแห่งชาติ โดยมี รศ.ดร.เรณู สุขารมณ์ เป็นผู้วิจัย

[3] นักเศรษฐศาสตร์แนะนำให้หลีกเลี่ยงการสอบถามผู้ที่เคยไปป่าดังกล่าวมาแล้ว เพราะมูลค่าที่ต้องการประเมินในส่วนนี้เป็นมูลค่าที่ไม่ได้ใช้ จึงไม่ควรสอบถามผู้ที่ไปมาแล้ว อีกทั้งไม่ควรสอบถามชาวบ้านที่เข้าไปหาของป่าออกมาขายหรือมาบริโภคในครัวเรือน เพราะเชื่อว่าประสบการณ์ที่เคยไปป่ามา จะรบกวนมูลค่าที่ไม่ได้ใช้ (ค่าที่แท้จริง) เป็นปัญหาของความยากที่จะแยกส่วน ฉะนั้น เพื่อให้ง่ายและเชื่อถือได้ งานวิจัยนี้จึงสอบถามแต่ผู้ที่ไม่เคยเข้าป่าแก่งเสือเต้น

2. *คำถามเกี่ยวกับข้อมูลเศรษฐกิจ-สังคม* (socio-economic) ของผู้ตอบ เช่น อายุ เพศ รายได้ สถานภาพสมรส การศึกษา ฯลฯ (Characteristic Variables หรือ Censor Variables) ทั้งนี้แล้วแต่สมมติฐานที่ต้องการทดสอบของแต่ละการวิจัย จึงไม่มีการเขียนเป็นทฤษฎีหรือแบบจำลอง เพื่อตรวจสอบว่าปัจจัยอะไรมีอิทธิพลในการกำหนดขนาดสูงต่ำของมูลค่าความเต็มใจจะจ่าย

3. *ข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับป่าสักที่ต้องการประเมินค่า* ในส่วนนี้บรรจุคำถามที่ใช้สำรวจทัศนคติของผู้ที่มีต่อลักษณะเฉพาะของป่าสัก เพราะจากหลักฐานการวิจัย CVM ในอดีต แสดงให้เห็นว่า อิทธิพลของการรับรู้ข่าวสารของสินค้าที่ต้องการประเมินค่ามีบทบาทสำคัญไม่มากก็น้อยต่อการกำหนดขนาดของมูลค่าความเต็มใจจะจ่าย ประโยชน์ที่ได้จากข้อมูลส่วนนี้ คือ การนำไปสู่การอภิปรายในเชิงเสนอแนะนโยบายของรัฐที่ปรับปรุงรัฐสวัสดิการ

จากคำถามแบบ Dichotomous Referendum Format นำมาแปลงเป็นตัวเลขซึ่งสามารถนำข้อมูลมาประมาณค่า เพื่อหารูปแบบของฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นสะสม (cumulative distribution function หรือ c.d.f.) แล้วนำไปคำนวณหาค่าเฉลี่ยของ WTP และค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย WTP ได้ ดังสมการต่อไปนี้

$$WTP = X\beta + u \qquad \text{..... (1)}$$

โดย WTP คือ nx1 เวคเตอร์ ส่วน $X$ คือ nxk matrix ของตัวแปรอิสระที่กำหนดขนาดของ WTP ตลอดจนค่าตัวแปรคงที่ $\beta$ คือ kx1 เวคเตอร์ของ unknown parameter และ u คือ nx1 เวคเตอร์ ของ random error term ที่สมมติให้มีการแจกแจงแบบปกติที่ความแปรปรวนไม่คงที่ $N(O,\sigma^2 I)$ โดยที่ I คือ nx1 เวคเตอร์ของตัวแปรชี้วัดค่า WTP แท้จริงเท่ากับหรือมากกว่าค่า threshold $t_i$ แต่จะเป็น 0 ถ้าค่า WTP แท้จริงน้อยกว่าค่า threshold $t_i$ ดังนั้น ค่าความน่าจะเป็นที่ WTP จะเท่ากับหรือเท่ากับหรือมากกว่า $t_i$

จากคำถาม Double-Bounded จะมี 4 ผลลัพธ์ ฟังก์ชันความน่าจะเป็นร่วมกันของทุกเหตุการณ์ (Joint density function) ของ Likelihood Function ดังสมการที่ (2) ซึ่งเป็นผลคูณของค่าความน่าจะเป็นทุกเหตุการณ์: (YY), (YN), (NY) และ(NN) และแปลงสมการ (2) เป็น log ได้สมการ (3) เพื่อใช้ run ในคอมพิวเตอร์

$$L = P(YY)P(YN)P(NY)P(NN) \qquad \text{..... (2)}$$

$$\ln L = \sum_{i=1}^{n} [I_{YY} \ln P_i^{YY} + I_{YN} \ln P_i^{YN} + I_{NY} \ln P_i^{NY} + I_{NN} \ln P_i^{NN}] \qquad \text{..... (3)}$$

***ฟังก์ชันที่ใช้ run LIFEREG ใน SAS***

ใน SAS ทำการประมาณค่าด้วยวิธี MLE โดยเขียนคำสั่งที่ใช้ลักษณะของการแจกแจงความน่าจะเป็นของ WTP 3 แบบ ที่ Cameron แนะนำ คือ lognormol, weibull และ loglogistic distribution (สมการที่ (4) เป็น semilog ซึ่งแสดงรูปทั่วไปของสมการที่ SAS ทำการประมาณค่าพารามิเตอร์ให้)

```
MODEL(LOWER,UPPER) = /d   = lognormal;
MODEL(LOWER,UPPER) = X/d = lognormal;
MODEL(LOWER,UPPER) = /d   = weibull;
MODEL(LOWER,UPPER) = X/d = weibull;
MODEL(LOWER,UPPER) = /d   = loglogistic;
MODEL(LOWER,UPPER) = X/d = loglogistic;
```

..... (4)

โดย X เป็น matrix ของตัวแปร Characteristic ซึ่งใช้ทดสอบสมมติฐานว่าตัวแปรใดบ้างที่มีส่วนกำหนดขนาดของ WTP ผลการคำนวณจากคอมพิวเตอร์จะพิมพ์ค่าพารามิเตอร์ $\beta$ และ $\sigma$ ออกมาให้นำค่าทั้งสองไปคำนวณหาค่าเฉลี่ยของ WTP ดังสมการที่ (5) และหาค่ามัธยฐานของ WTP ในสมการ (6) ผลการประมาณค่าแสดงในตารางที่ 1

Mean WTP $= e^{\mu} . \Gamma(1+\sigma)$ ..... (5)

Median WTP $= e^{\mu}.(Ln2)^{\sigma}$ ..... (6)

ตารางที่ 1. ค่าประมาณของค่าเฉลี่ย WTP และค่ามัธยฐาน WTP

| ค่าสถิติ / ค่าคำนวณได้ | ผลการประมาณค่าภายใต้การแจกแจงแบบไวบัลล์ |
|---|---|
| ค่าประมาณของ Max Log-Likelihood จากแบบจำลองที่ไม่มีตัวแปร Characteristic X (LnLo) | -1008.549308 |
| ค่าประมาณของ Max Log-Likelihood จากแบบจำลองที่มีตัวแปร Characteristic X (LnL) | -941.5079851 |
| ค่า Intercept ($\mu$) | 6.76671137 |
| ค่า Scale ($\sigma$)[3] | 1.18183045 |
| ค่าเฉลี่ย WTP (บาท/คน)[1] | 947 |
| ค่าปรับแล้วค่าเฉลี่ยของ WTP (บาท/คน)[5] | 473.50 |
| ค่ามัธยฐาน WTP (บาท/คน)[2] | 210 |
| ค่าปรับแล้วของค่าเฉลี่ย WTP (บาท/คน)[5] | 105 |
| Pseudo $R^2$ (%)[4] | 6.7 |

หมายเหตุ: ในการแจกแจงแบบไวบัลล์ คำนวณค่าต่าง ๆ โดยสูตรต่อไปนี้:

(1) Mean WTP $= e^{\mu} . \Gamma(1+\sigma)$

(2) Median WTP $= e^{\mu}. (Ln2)^{\sigma}$

(3) $\Gamma(1+\sigma)$ จากผลคอมพิวเตอร์ คือ 1.0910633749

(4) $Pseudo\ R^2 = 1 - \frac{lnL}{lnLo} = 1 - \frac{-941.5079851}{-1008.549308}$

(5) หลักการของ NOAA Panel's ที่ให้ลดปัญหาความเอนเอียงโดยหารสองค่าที่คำนวณได้ รายละเอียดดูใน Hanley et al., 1997

***คำนวณมูลค่ารวม (Aggregation)***

นำค่าเฉลี่ยของการเต็มใจบริจาคต่อคนมาคูณด้วยจำนวนประชากรที่มีอำนาจซื้อ (เพราะจะสามารถร่วมบริจาคได้) คือ จำนวนประชากรในวัยแรงงาน ซึ่งใน พ.ศ.2539-2540 จะมีทั้งสิ้น 30.8 ล้านคน ประมาณร้อยละ 60 ของแรงงานทั้งประเทศอยู่ในภาคเกษตรกรรม ที่เหลืออยู่ในภาคอุตสาหกรรมคิดเป็นจำนวน 12 ล้านบาท นำค่านี้ไปคูณกับค่าเฉลี่ยที่คำนวณได้มูลค่าป่าสักทั้งหมด 5,682 ล้านบาท เพื่อตรวจสอบว่ามูลค่าดังกล่าวน่าเชื่อถือหรือไม่ ถ้าจะนำไปเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นในประเทศไทย แต่ไม่สามารถเปรียบเทียบกับมูลค่าที่มิได้ใช้ป่าสักอื่น ๆ เพราะ 1) ไม่เคยมีการศึกษาในทำนองเดียวกันนี้มาก่อนในประเทศไทย เท่าที่สำรวจเอกสารพบว่า เคยมีการศึกษามูลค่ารวมของป่าอุทยานแห่งชาติแห่งอื่น ๆ มาบ้างแล้ว เช่น อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ (TDRI, 1995) แต่ก็ยังไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้เพราะเป็นการประเมินคนละวัตถุประสงค์กัน คือ งานวิจัยส่วนนี้ทำการประเมินมูลค่ามิได้ใช้ของป่าสักแม่ยม ส่วนการศึกษาอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่เป็นการประเมินค่ารวม และ 2) อุทยานเขาใหญ่มีป่าที่มีลักษณะแตกต่างกันจากป่าสักแม่ยม

จากตารางที่ 2 แสดงอิทธิพลของตัวแปรอิสระ (Characteristic X) ที่มีต่อขนาดความเต็มใจบริจาค ผลทางสถิติพบว่า ตัวแปรสำคัญที่มีส่วนกำหนดค่า WTP คือ รายได้ เพศ อายุ และขนาดของครอบครัว ในการพิจารณาบางบทบาทของกลุ่มตัวแปรหุ่นต้องใช้ค่าสถิติ Likelihood Ratio Test[4]

[4]แบบจำลองที่ใช้เป็น semi-log equation เพราะฉะนั้นต้องระมัดระวังเวลาตีความ หรืออ่านค่าพารามิเตอร์ สังเกตว่าค่าที่ประมาณได้ค่อนข้างยากที่จะสรุปว่า ตัวแปรหุ่นกลุ่มนั้นๆ มีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ อย่างไรก็ตาม Greene (1997) แนะนำให้ใช้เครื่องมือทางเศรษฐมิติเรียกว่า Likelihood Ratio Test

ตารางที่ 2. ค่าประมาณของค่าสัมประสิทธิ์ตัวแปร Characteristic X ที่กำหนดขนาดความเต็มใจบริจาคด้วยการแจกแจงแบบไวบัลล์

| ตัวแปร Characteristic | ค่าประมาณสัมประสิทธิ์ | ค่า p |
|---|---|---|
| LOGINC | 0.02011 | 0.0361 |
| MEMBER | -0.0110 | 0.0616 |
| AGE | -0.0119 | 0.0281 |
| GENDER | 0.3246 | 0.0051 |
| ตัวแปรหุ่นกลุ่มของชั้นของอาชีพ | | |
| GOVSTAFF | 0.3371 | 0.1657 |
| PRIVATE | 0.7148 | 0.0025 |
| ENTREPRE | 0.6527 | 0.0086 |
| EMPLOYEE | 0.2588 | 0.1800 |
| STUDENT | 0.2060 | 0.3526 |
| RETIRED | -0.9770 | 0.0076 |
| HOUSEWIFE | -0.3018 | 0.3921 |
| ตัวแปรหุ่นกลุ่มของชั้นของการศึกษาสูงสุด | | |
| NOSCHOO | -1.3578 | 0.1123 |
| ELEMENT | -0.9590 | 0.0100 |
| JUHIGH | -0.6749 | 0.0673 |
| HIGH | -0.6354 | 0.0740 |
| VOCATION | -0.5162 | 0.1507 |
| BACHELOR | -0.4388 | 0.2200 |
| MASTER | 0.0090 | 0.9869 |
| เคยมีประสบการณ์ไปป่าสักอุทยานแห่งชาติที่จังหวัดใด | | |
| เชียงใหม่ | -0.1667 | 0.3633 |
| ลำปาง | 0.6722 | 0.1135 |
| ท่านคิดว่าเราจำเป็นต้องช่วยปกป้องป่าสักแม่ยมหรือไม่ | | |
| ใช่ | 0.2539 | 0.5639 |
| ไม่ใช่ | -0.6283 | 0.6454 |
| ท่านเป็นสมาชิกชมรมอนุรักษ์ใด ๆ ก็ได้ | | |
| ใช่ | -0.1414 | 0.6366 |
| ไม่ใช่ | -0.0981 | 0.7232 |
| ท่านได้ตั้งความหวังที่จะไปเที่ยวป่าสักแม่ยมในอนาคต | | |
| ใช่ | 0.5101 | 0.0001 |
| ไม่ใช่ | 0.3291 | 0.0530 |
| ท่านปรารถนาที่จะปกป้องป่าสักแม่ยมเพื่อเป็นมรดกสำหรับรุ่นลูก | | |
| ใช่ | -1.0395 | 0.0139 |
| ไม่ใช่ | -0.5872 | 0.5530 |
| ท่านร่วมบริจาคเงินเพราะคำนึงถึงประโยชน์ของป่าสักแม่ยมในด้านความหลากหลายทางชีวภาพ | | |
| ใช่ | -0.2623 | 0.1478 |
| ไม่ใช่ | -1.0705 | 0.1698 |

ที่มา: รายงานการศึกษาโครงการการศึกษาและพัฒนาการประเมินค่าทางเศรษฐศาสตร์ของป่าไม้, คณะเศรษฐศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2542

เพื่อให้การประเมินค่ารวมทางเศรษฐกิจของป่าสักแม่ยม จังหวัดแพร่ ครบถ้วนตามหลักวิชาการ จึงได้ศึกษาประเมินค่าอีกส่วนหนึ่ง คือ มูลค่าที่ยังมิได้ใช้ (non-use value) โดยเทคนิค CVM ด้วยตัวอย่าง 915 คน จาก 12 จังหวัดทั่วประเทศไทยที่เลือกด้วยวิธีการเชิงสุ่มอย่างง่าย (Simple Random Sampling) เป็นการสำรวจภาคสนามที่สมมติเหตุการณ์ว่า หากไม่มีการปกป้องป่าสักแต่อย่างใดอาจสูญเสียป่าสักแม่ยมซึ่งเป็นป่าสักธรรมชาติผืนเดียวที่เหลืออยู่ เพราะเหตุผลที่ต้องการเปลี่ยนพื้นที่บริเวณนี้ไปทำประโยชน์เพื่อการพัฒนาด้านอื่น คำถามในแบบสอบถามที่สร้างขึ้นจะช่วยให้ผู้ที่ได้รับการเลือกตอบว่ามีความยินดีบริจาคเพียงครั้งเดียวในชีวิตเขาเพื่อร่วมก่อตั้งมูลนิธิเพื่ออนุรักษ์ป่าสักแม่ยม จังหวัดแพร่ ให้ดำรงต่อไปและเป็นมรดกตกทอดสู่ลูกหลานหรือไม่ และเป็นจำนวนเงินเท่าใดสำหรับมูลค่าที่มิได้ใช้

(non-use value) ผลจากการใช้แบบจำลอง LIFEREG ที่เรียก Censored Logistic Regression พบว่า การประมาณค่าแบบจำลองที่อยู่ในรูป semi–log equation ด้วยวิธี Maximum Likelihood Estimation ให้ค่า WTP มีการแจกแจงแบบไวบัลล์ ค่าเฉลี่ยของ WTP เท่ากับ 473.5 บาทต่อคน ค่ามัธยฐานเป็น 105 บาทต่อคน ประเมินเป็นมูลค่ามิได้ใช้รวมทั้งประเทศไทยได้ 5,682 ล้านบาท ที่ชาวไทยเต็มใจบริจาคเพื่อรักษาป่าสักแม่ยม จังหวัดแพร่ ไว้ตราบชีวิตคนรุ่นนี้และเพื่อเก็บเป็นมรดกลูกหลานไทยในรุ่นต่อๆ ไปด้วย ซึ่งเมื่อคิดเป็นมูลค่าปัจจุบันด้วยอัตราคิดลดคงที่ร้อยละ 5 ใช้อายุ 50 ปีของโครงการ ได้ 2,178.3 ล้านบาท

สรุปได้ว่า มีกลุ่มตัวแปรที่มีนัยสำคัญทางสถิติตามที่คาดไว้ เช่น อาชีพ การศึกษา กลุ่มตัวแปรที่ถามเหตุผลที่ผู้ตอบอยากอนุรักษ์ป่าสักไว้เพื่อให้เขาภาคภูมิใจว่าป่าสักแม่ยมที่เป็นป่าธรรมชาติที่สมบูรณ์ผืนเดียวของไทยที่เหลืออยู่จะดำรงอยู่ตราบชั่วชีวิตเขา (OPTION) และยังสืบต่อไปเป็นมรดกแก่ลูกหลานในอนาคต (BEQUEST) ตลอดจนตัวแปรทัศนคติเหตุผลที่อยากอนุรักษ์ป่าไว้เพราะคุณค่าด้านความหลากหลายทางชีวภาพ (BIO) และด้านอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม (ENVIRON) ด้วย

ตารางที่ 3. มูลค่ารวมทางเศรษฐกิจของป่าสักในเขตอุทยานแห่งชาติแม่ยม บริเวณที่จะสูญเสียถ้ามีการสร้างเขื่อนแก่งเสือเต้น

| องค์ประกอบ | มูลค่าทางเศรษฐกิจ (ล้านบาท) | | | มูลค่าปัจจุบัน* (Net Present Value: NPV) (ล้านบาท) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ต่ำสุด | ปานกลาง | สูงสุด | ต่ำสุด | ปานกลาง | สูงสุด |
| มูลค่าที่มีการใช้ (Use Value) | | | | 1,605 | ถึง | 4,212 |
| I. ทรัพยากรชีวภาพ (Biological Resources) | | | | 771 | 1,454 | 2,511 |
| - ผลิตภัณฑ์ของป่า (NTFP) (ต่อปี) | 40 | 76 | 122 | 759 | 1,454 | 2,331 |
| - พันธุกรรมไม้สัก (ต่อปี) | 0.64 | - | 9.38 | 12 | - | 180 |
| II. การดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon Sequestration) | | | | 48 | - | 915 |
| - การปล่อยในระยะแรก | 42 | - | 851 | | | |
| - การปล่อยในระยะยาว (ต่อปี) | 0.32 | - | 3.33 | | | |
| III. การท่องเที่ยวเชิงนิเวศ (Ecotourism) (ต่อปี) | 41 | | | 786 | | |
| มูลค่าที่ไม่มีการใช้ (Non-use Value) (ต่อปี) | 114 | | | 2,178 | | |
| มูลค่ารวมทางเศรษฐกิจทั้งหมด | | | | 3,783 | ถึง | 6,390 |

หมายเหตุ* เป็นการคำนวณในช่วงเวลา 50 ปี ด้วยอัตราส่วนลดร้อยละ 5 เพื่อเปรียบเทียบกับโครงการเขื่อนแก่งเสือเต้น

## บทสรุป

การรวมมูลค่าที่มีการใช้ประโยชน์ และมูลค่าที่ไม่มีการใช้ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษานี้ สามารถสรุปมูลค่ารวมทางเศรษฐกิจของป่าสักในเขตอุทยานแห่งชาติแม่ยม บริเวณที่จะสูญเสียถ้ามีการสร้างเขื่อนแก่งเสือเต้นได้ตามตารางที่ 3 ซึ่งมูลค่าดังกล่าว คือ ต้นทุนทางสิ่งแวดล้อมของโครงการแก่งเสือเต้น การตัดสินใจสร้างเขื่อนแก่งเสือเต้น น่าจะพิจารณาเปรียบเทียบมูลค่าผลตอบแทนจากการมีเขื่อน เทียบกับมูลค่าความสูญเสีย ซึ่งการศึกษานี้ได้แสดงไว้แล้ว[5] อย่างไรก็ตาม หากจุดประสงค์ในการสร้างเขื่อนแก่งเสือเต้นเป็นไปเพื่อการแก้ปัญหาการขาดแคลนน้ำในฤดูแล้งและการป้องกันน้ำท่วมในฤดูฝน ในทางวิศวกรรมอาจมีทางเลือก เช่น การสร้างเขื่อนขนาดเล็ก (check dam) จำนวนหลายเขื่อนตามลำแม่น้ำยม ซึ่งแม้ต้นทุนในการก่อสร้างจะสูงกว่าการสร้างเขื่อนขนาดใหญ่เพียงเขื่อนเดียวในพื้นที่ป่า แต่หากพิจารณาต้นทุนทางสิ่งแวดล้อมในรูปการสูญเสียป่าไม้ธรรมชาติอย่างถาวร ดังการศึกษาข้างต้นแล้ว ทางเลือกดังกล่าวน่าจะได้รับการพิจารณา

[5] หากจะเทียบความสูญเสียจากการสร้างเขื่อนจากการประเมินค่าป่าบริเวณที่จะถูกน้ำท่วม ซึ่งมีมูลค่าปัจจุบันประมาณระหว่าง 3,800 ถึง 6,400 ล้านบาท จะเห็นว่าสูงกว่ามูลค่าตอบแทนสุทธิในรูปมูลค่าปัจจุบันของโครงการเขื่อนแก่งเสือเต้นที่คำนวณไว้โดย FAO (FAO/World Bank 1991) ที่ประมาณเท่ากับ 1,800 ล้านบาท

**กิตติกรรมประกาศ**

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 339008 ข้อมูลที่อ้างอิงในบทความนี้ได้จากการศึกษาของ “โครงการการศึกษาและพัฒนาการประเมินค่าทางเศรษฐศาสตร์ของป่าไม้” โดยทีมวิจัยซึ่งมี ดร. คุณหญิงสุธาวัลย์ เสถียรไทย เป็นหัวหน้าโครงการและมีผู้วิจัยร่วมจากหลายสถาบัน อันประกอบด้วยสี่กลุ่มด้วยกันคือ (1) การประเมินมูลค่าป่าในการเป็นแหล่งทรัพยากรชีวภาพ: ดร. คุณหญิงสุธาวัลย์ เสถียรไทย ดร.อภิชาติ ขาวสอาด ดร.อิศรา ศานติศาสน์ รศ. ดร. อนุชาติ พวงสำลี Dr. David Simpson (2) การประเมินมูลค่าการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์: รศ. ดร.สิตานนท์ เจษฎาพิพัฒน์ ดร.ลดาวัลย์ พวงจิตร Dr. Roger sedjo (3) การประเมินมูลค่าป่าในเชิงเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ: ดร.อดิศร์ อิศรางกูร ณ อยุธยา Dr. Warren Brockleman และ (4) การประเมินมูลค่าที่ไม่มีการใช้ (Non use value): ดร.เรณู สุขารมณ์ โดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้ร่วมกับองค์การ Resources for the Future (RFF) สหรัฐอเมริกา ภายใต้การสนับสนุนจาก 3 แหล่งทุนคือ โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย, สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ(NEPO) และมูลนิธิฟอร์ด

**เอกสารอ้างอิง**

ศูนย์เศรษฐศาสตร์นิเวศ คณะเศรษฐศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2542. โครงการประเมินค่าทางเศรษฐศาตร์ของป่าไม้สักที่อุทยานแห่งชาติแม่ยม. รายงานฉบับสมบูรณ์ เสนอต่อ โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ศูนย์เศรษฐศาสตร์นิเวศ คณะเศรษฐศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2543. โครงการการศึกษาและพัฒนาการประเมินค่าทางเศรษฐศาสตร์ของป่าไม้ รายงานฉบับสมบูรณ์ เสนอต่อ กองทุนเพื่อส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ.

สถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศไทย. 2543. การศึกษาพัฒนาการวิเคราะห์ผลกระทบสิ่งแวดล้อมด้านเศรษฐศาสตร์สิ่งแวดล้อม. รายงานฉบับสมบูรณ์ เสนอต่อ สำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.

Barbier, E. B. 1993. Valuing Tropical Wetland Benefits: Economic Methodologies and Applications. *Geographical journal* Part1, 59 (Mar.): 22-32.

Mitchell, R., and R.Carson.1989. Using Surveys to Value Public Goods: The Contingent Valuation Method. Washington. D.C.: Resources for the Future.

Thailand Development Research Institute, (1995) Green Financing, Bangkok.

# พันธุศาสตร์ของพืชสกุลถั่วแปบช้างในประเทศไทย

**ปรีชา ประเทพา**

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ. เมือง มหาสารคาม 44000

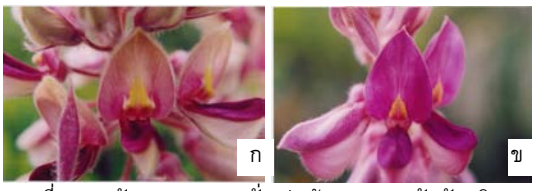
## Abstract: Genetic Studies of the Genus *Afgekia* Craib (Leguminosae) in Thailand

The genus *Afgekia* Craib is a small genus consisting of only three species, i.e., *Afgekia sericea*, *A. mahidolae* and *A. filipes*. All these species are wild perennial plants and woody climbers. The first two species have been found only in Thailand and are investigated in this study. *Afgekia sericea* is widely distributed throughout the northeastern region. However, *A. mahidolae* is confined to open limestone and is distributed sporadically in small populations in western Thailand. The chromosome complement of both species are very similar and are characterized by small chromosomes of metacentric and submetacentric types. They are also morphologically similar. Based on these data, the two taxa may have arisen as a result of allopatric speciation through the processes of allelic changes and/or chromosomal rearrangements in different geographical populations of the ancestral species. Both *A. sericea* and *A. mahidolae* have been recognized as rare species in Thailand. Significantly, natural populations of these plants are highly vulnerable to habitat loss due to deforestation. Thus, information on genetic variation is required for conservation strategies. Data from Shannon's information index indicated that 48.2% of the variation occurred between populations and 54.8% within populations for *A. sericea*, whereas *A. maidolae* populations exhibited 58.6% and 41.4% for within and between populations, respectively. These data can help in designing strategic *in situ* conservation programs for these rare species in Thailand.

**Key words:** *Afgekia sericea, Afgekia mahidolae,* speciation, conservation

## บทนำ

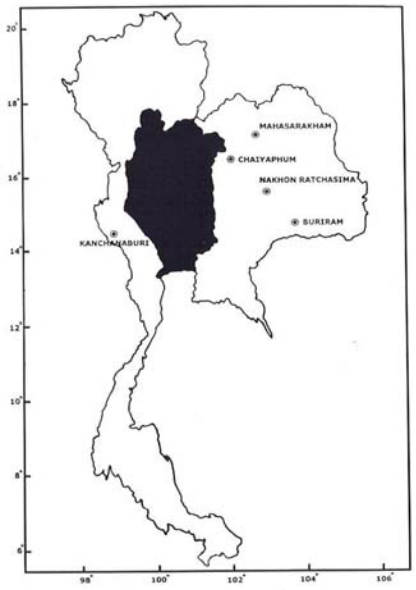
สกุลถั่วแปบช้าง (genus *Afgekia*) ถูกตั้งชื่อโดย W. G. Craib ในปี ค.ศ.1927 พบพืชสปีชีส์แรกในสกุลนี้ที่จังหวัดนครราชสีมา คือ ถั่วแปบช้าง (*A. sericea*) และต่อมาพบที่จังหวัดกาญจนบุรี คือ กันภัยมหิดล (*A. mahidolae*) (Burtt and Chermsirivathana, 1971) (ภาพที่ 1 และ 2) ในปี ค.ศ.1984 Geesink ได้ย้ายพืชชนิดหนึ่งคือ *Adinobotrys filipes* มาอยู่ในสกุลถั่วแปบช้าง คือ *Afgekia filipes* (Dunn) Geesink ดังนั้นพืชสกุลถั่วแปบช้างจึงมี 3 สปีชีส์ ถ้าพิจารณาลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นเกณฑ์ จะพบว่าพืชในสกุลนี้ ถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล เป็นพืชที่มีความคล้ายคลึงกันมาก และแตกต่างจาก *A. filipes* พืชทั้งสามสปีชีส์เป็นพืชป่าและเป็นไม้เลื้อยที่มีอายุยืน มีลักษณะเด่นคือ มีช่อดอกที่สวยงาม และพบว่ามีเฉพาะในไทยเท่านั้น



ภาพที่ 1. (ก) ลักษณะดอกของถั่วแปบช้าง และ (ข) กันภัยมหิดล

Rabinowitz (1981) สรุปว่า พืชหรือสัตว์หายาก (rare species) ประกอบด้วยคุณลักษณะต่างๆ คือ 1) รูปแบบการกระจายของพืช (geographic range) 2) การมีถิ่นอาศัยเฉพาะที่ใดที่หนึ่ง (specific to habitat) และ 3) ความหนาแน่นของประชากร (population densities) ซึ่งคุณลักษณะที่เป็นตัวบ่งชี้ว่าเป็นสปีชีส์หายากนั้น จะอยู่ในรูปแบบใดรูปแบบหนึ่งของ 3 รูปแบบ คือ 1) มีรูปแบบการกระจายแบบแคบๆ ไม่กว้าง (narrows geographic range) หรือ 2) มีถิ่นอาศัยเฉพาะที่ใดที่หนึ่ง หรือ 3) มีความหนาแน่นของประชากรต่ำ (มีจำนวนมวลสมาชิกต่อพื้นที่จำนวนน้อย) นอกจากนี้ Huenneke (1991) ได้เสนอคำนิยามของ "สปีชีส์หายาก" ในแนวคิดใหม่ (new rare species) หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่แต่เดิมพบเห็นโดยทั่วไปในพื้นที่ใดพื้นที่หนึ่ง แต่ต่อมามีขนาดเล็กลงและมีอยู่เพียงเล็กน้อย และแยกออกเป็นประชากรย่อยๆ อันเนื่องมาจากการกระทำของมนุษย์ เมื่อพิจารณาตามหลักเกณฑ์ต่างๆ ของทั้ง 2 แนวคิดแล้ว จะพบว่าถั่วแปบช้าง และกันภัยมหิดลจัดอยู่ในกลุ่มพืชหายาก ถั่วแปบช้างเดิมมีถิ่นอาศัยที่มีมวล

สมาชิกกระจายอยู่ทั่วภาคอีสาน ซึ่งต่อมาได้มีการบุกรุกทำลายป่า ทำให้ถิ่นอาศัยลดน้อยลง จำนวนประชากรที่หลงเหลืออยู่มีจำนวนน้อยและในแต่ละประชากรมีจำนวนมวลสมาชิกน้อยมาก กันภัยมหิดลจัดเป็นพืชหายากเนื่องจากมีถิ่นอาศัยเฉพาะภูเขาหินปูนของจังหวัดกาญจนบุรี มีการกระจายของประชากรแคบๆ จากการสำรวจพบว่ามีอยู่เพียง 2 ภูเขาเท่านั้น และในแต่ละประชากรมีจำนวนสมาชิกน้อยมากประมาณ 10–25 ต้นต่อประชากร (Prathepha and Baimai, 1999a)



ภาพที่ 2. การกระจายพันธุ์ของถั่วแปบช้างใน 4 จังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และกันภัยมหิดลในจังหวัดกาญจนบุรีของภาคตะวันตกของ

ถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล เป็นดิพลอยด์ (2X) มีจำนวนโครโมโซม 2n=16 และมีรูปร่างตลอดจนขนาดของโครโมโซมคล้ายคลึงกันมาก (Prathepha, 1994; Prathepha and Baimai, 1999a) (ภาพที่ 3) การวิจัยทางด้านโครงสร้างทางพันธุกรรม (genetic structure) และวิวัฒนาการระดับโมเลกุลในพืชสองสปีชีส์นี้ยังไม่มีการศึกษา ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงโครงสร้างทางพันธุกรรมและการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการในระดับโมเลกุลครั้งแรก เป็นการศึกษาและรายงานผลเกี่ยวกับหลักฐานที่สนับสนุนการเกิดวิวัฒนาการ คือ สัณฐานวิทยาและโครโมโซม ซึ่งนำไปสู่ข้อสรุปว่า ถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลเป็นพืชที่มีความใกล้ชิดกันมาก (closely related species) ทำให้ Prathepha and Baimai (1999a) ตั้งสมมติฐานเกี่ยวกับการเกิดวิวัฒนาการของพืชทั้งสองว่า มีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษเดียวกัน โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงอัลลีลหรือมีการจัดระเบียบโครโมโซมใหม่ (chromosomal rearrangement) ของประชากรของบรรพบุรุษที่มีถิ่นอาศัยแยกจากกันอย่างอิสระ (allopatric population) ในช่วงเวลามีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการนั้นคาดว่าจะเกิดขึ้นหลังจากยุคน้ำแข็งสิ้นสุดลง

โครงสร้างทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตจะศึกษาในระดับประชากร มีสิ่งชี้วัดทางพันธุกรรม คือ ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic variation) ชี้ให้เห็นว่าประชากรนั้นๆ มีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมในภาพรวม (total genetic variation) เป็นปริมาณเท่าใด มีระดับของการกระจายความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร (genetic variation within populations) อยู่เท่าใด หรือความหลากหลายทางพันธุกรรมนั้นมีความแตกต่างระหว่างประชากรเป็นอย่างไร (genetic variation among populations) ความสำคัญของความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรใดๆ นั้นมีความสำคัญต่อประชากร คือ ถ้าในประชากรใดๆ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในประชากรอื่นๆ นั้น ในทางทฤษฎีแล้วประชากรในกลุ่มแรกจะมีความสามารถอยู่รอดได้มากกว่าประชากรกลุ่มหลัง ดังนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมจึงมีความจำเป็นต่อความอยู่รอดของประชากรนั้นๆ แนวคิดในการประยุกต์ใช้ทฤษฎีทางพันธุกรรมมาใช้ในการอนุรักษ์พันธุ์พืช เช่น Xie et al. (2000) เสนอหลักการประยุกต์ใช้ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมในการอนุรักษ์ข้าวป่า ในสภาพถิ่นเดิม (*in situ*) หรือ สภาพนอกถิ่น (*ex situ*) คือ ประชากรใดๆ ถ้ามี genetic variation อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง ระดับต่ำ มีค่ามากกว่า 30% ข้าวป่าประชากรนั้นๆ ควรอนุรักษ์ไว้ในสภาพถิ่นเดิม ในทางตรงกันข้าม ถ้าข้าวป่าประชากรใด มี genetic variation อยู่ในระดับต่ำวัดจากเปอร์เซ็นต์ของ polymorphic band (หรือ PPB) มีค่าอยู่ระหว่าง 25-30% และไม่มีลักษณะเฉพาะใดๆ (หรือ special characters) ประชากรนั้นๆ ควรอนุรักษ์สภาพนอกถิ่น

ปัจจุบันมีเทคนิคต่างๆ ทางโมเลกุลที่นำมาใช้ในการศึกษาหรือการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากร และนำไปสู่ข้อสรุปเกี่ยวกับโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร เทคนิคต่างๆ ได้แก่ ไอโซไซม์ (isozyme) หรือ อัลโลไซม์ (allozyme), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), PCR (Polymerase Chain Reaction), PCR-RFLP และ RAPD (Random Amplified Polymorphic DNAs) หรือ การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

(DNA sequence) เป็นต้น ซึ่งมีรายงานผลการศึกษาออกมาเป็นจำนวนมากในด้านการประยุกต์ใช้เทคนิคเหล่านี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการประยุกต์ใช้เทคนิค RAPD ศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมในพืชหายาก เช่น งานวิจัยของ Chalmers et al. (1992); Hsiao and Rieseberg (1993); Gustafsson and Gustafsson (1994) เป็นต้น

การศึกษาสายสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic relationships) ของสิ่งมีชีวิตจะเป็นหลักฐานสนับสนุนแนวคิดการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการ และการเกิดสปีชีส์ใหม่ อันเป็นสาขาหนึ่งของวิชาชีววิทยาเชิงวิวัฒนาการ (evolutionary biology) มีหลักฐานมากมายที่แสดงว่าเครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular markers) แบบต่างๆ ได้แก่ ลำดับกรดอะมิโนและลำดับนิวคลีโอไทด์ได้บรรจุข้อมูลประวัติศาสตร์เชิงการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการ (evolutionary history) ของสิ่งมีชีวิตกลุ่มต่างๆ ซึ่งเทคนิคเหล่านี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตได้เป็นอย่างดี (Clegg, 1993; Haymer, 1994) ในนิวเคลียส ยีนไรโบโซมัลอาร์เอ็นเอ (ribosomal RNA genes: rRNA) ของสิ่งมีชีวิตที่เป็นยูคาริโอต เป็นบริเวณดีเอ็นเอที่สร้าง RNA ของไรโบโซม ซึ่งมี 3 แบบ คือ 18s, 5.8s, และ 26s ยีนนี้จัดอยู่ในกลุ่ม multifamilies gene คือ ในยีน 1 หน่วยประกอบด้วยส่วนที่เป็นดีเอ็นเอสำหรับสังเคราะห์ไรโบโซม 3 แบบดังกล่าว และยีนนี้จะมีหลายซ้ำ (repeating unit) ซึ่งจำนวนซ้ำของยีนจะอยู่กันเป็นกลุ่ม คือ มีการกระจายแบบต่อเนื่อง (tandem arrays) ซึ่งจะพบในบริเวณ nucleolar organizer (NORs) ดีเอ็นเอส่วนหนึ่งที่เชื่อมต่อระหว่างยีนหน่วยใดๆ ที่อยู่ใกล้กัน

ดีเอ็นเอส่วนนี้เรียกว่า “intergenic DNA” (ภาพที่ 7 ) ยีน rRNA 1ยีน (หรือ 1 หน่วย) ที่รับผิดชอบการสังเคราะห์ไรโบโซมัล ดีเอ็นเอ 3 แบบ (18s, 5.8s และ 26s) นั้น ดีเอ็นเอส่วนที่จะลอกรหัสและแปลรหัสจะเรียกว่า “coding region” ซึ่งมีอยู่ 3 บริเวณ (คือ 18s, 5.8s และ 26s) และมีดีเอ็นเอส่วนที่จะลอกรหัส แต่ไม่ถูกแปลรหัส จะเรียกว่า “non-coding region” บริเวณนี้จะเรียกชื่อเฉพาะว่า “internal transcribed spacer (ITS)” ซึ่งดีเอ็นเอบริเวณ ITS นี้ถูกใช้ในการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูล หรือหลักฐานในการอธิบายถึงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยสิ่งมีชีวิตกลุ่มต่างๆได้ และมีการใช้ดีเอ็นเอส่วนนี้ศึกษาในแนวทางดังกล่าวอย่างแพร่หลาย (Baldwin, 1992; Baldwin et al., 1995)

Bayer et al. (1996) ได้เสนอแนะว่าการใช้ดีเอ็นเอส่วนที่เป็น ITS เป็นเครื่องมือในการศึกษานั้นมีข้อได้เปรียบหลายประการ เช่น อัตราการเกิดการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการ มีความเหมาะสมสำหรับศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในระดับสปีชีส์ ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างสปีชีส์ สามารถเปรียบเทียบได้ค่อนข้างง่าย เนื่องจากความยาวของดีเอ็นเอบริเวณ ITS แตกต่างกันน้อยในระดับสกุลในพืชดอก และนอกจากนี้ยังพบว่าแม้แต่ในสัตว์ที่มีความใกล้ชิดกัน ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS ก็ยังแสดงความแตกต่างให้เห็นได้ด้วย (Appels and Honeycutt, 1986)

นอกจากนี้การศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชยังใช้การวิเคราะห์คลอโรพลาสต์ ดีเอ็นเอ (cpDNA) อันเป็นเครื่องมือที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งสำหรับนักวิทยาศาสตร์ (Palmer et al., 1988; Clegg et al., 1991) ยีนที่นิยมนำมาศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืช คือ ยีน rbcL (large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase) (Clegg, 1993) ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL นี้ถูกนำไปสร้างสายสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชได้ (Palmer, 1987) ด้วยเหตุผลที่ว่ายีน rbcL มีเพียง 1 ยีนเท่านั้น (a single copy) ในยีโนมของคลอโรพลาสต์ ดังนั้นจึงไม่น่าวิตกเกี่ยวกับการเกิดรีคอมบิเนชันในคลอโรพลาสต์ยีโนม (intragenic recombination) และการเปรียบเทียบยีน rbcL ระหว่างสิ่งมีชีวิตคนละสปีชีส์ว่าจะเป็นยีนคนละตำแหน่ง (paralogous loci) (Yasui and Ohnishi, 1996) มีผลงานวิจัยตีพิมพ์ที่มีการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนนี้ในวงศ์ย่อย (subfamily) Papilionoideae ซึ่งพบความสัมพันธ์ที่น่าสนใจในกลุ่มของพืชที่อยู่ในวงศ์ย่อยดังกล่าวโดย Kass and Wink (1997)

ยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (rbc) มีอยู่ 2 ยีน คือ rbcS (the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase) เป็นยีนที่อยู่ในนิวเคลียส เดิมอยู่ในคลอโรพลาสต์และมีวิวัฒนาการเข้าไปอยู่ในนิวเคลียส รับผิดชอบในการสังเคราะห์หน่วยย่อยแบบเล็กของเอนไซม์ ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะเกี่ยวข้องกับขบวนการตรึง (fixation) คาร์บอนในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยเอนไซม์จะทำหน้าที่ในการรวม (condensation) ระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำตาลที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 5 คาร์บอน (five-carbon sugar) คือ ribulose-1,5-bisphosphate กลายเป็นน้ำตาล 2 โมเลกุล แต่ละโมเลกุลมี 3 คาร์บอน คือ

3-phosphoglycerate (PGA) holoenzyme ซึ่งสามารถทำงานได้นั้นจะประกอบด้วย หน่วยย่อยขนาดเล็กๆ ที่เหมือนกัน 8 หน่วยย่อย ที่สังเคราะห์จากยีน rbcS ในนิวเคลียส และหน่วยย่อยขนาดใหญ่ที่เหมือนกันอีก 8 หน่วยย่อยที่สังเคราะห์จากยีน rbcL ที่อยู่ในคลอโรพลาสต์

ยีน rbcS เป็นยีนที่มีหลายซ้ำ (gene family) ในพืชดอก (angiosperms) ที่เป็นดิพลอยด์ ยีนนี้จะมี 2-8 ซ้ำ แต่ในยีน rbcL ของคลอโรพลาสต์จะมีเพียง 1 ยีนเท่านั้น (Clegg et al., 1997)

นอกจากนี้การศึกษารูปแบบของแถบดีเอ็นเอหลังจากตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (PCR-amplified ITS regions and restriction digestion profiles) สามารถใช้เป็นหลักฐานที่จะอธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการระดับดีเอ็นเอในระดับสปีชีส์ หรือระดับประชากรได้ ซึ่งมีรายงานการศึกษาโดยใช้เทคนิค PCR-RFLP ใน ribosomal DNAs ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ได้แก่ Pythium species (Chen, 1992) แมลงเบียน Trichogramma species (Sappal et al., 1995) เป็นต้น

การศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรธรรมชาติในพืชสกุลถั่วแปบช้าง 2 สปีชีส์ คือ ถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล โดยใช้เทคนิค RAPD และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการเกิดวิวัฒนาการระดับโมเลกุลในพืช 2 สปีชีส์นี้ โดยใช้การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ บริเวณ ITS1 และ ITS2 และยีน rbcL และศึกษาถึงความแปรผันทางพันธุกรรมระดับประชากรของพืชทั้งสองชนิดนี้โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS1-5.8s-ITS2 และยีน rbcL ซึ่งผลจากการศึกษานี้ทำให้ทราบถึงโครงสร้างทางพันธุกรรมในประชากรธรรมชาติของพืชทั้งสองสปีชีส์ ซึ่งจะนำไปสู่การวางแผนและการจัดการในการอนุรักษ์พืชหายากของไทยต่อไป นอกจากนี้จะได้ข้อมูลทางพันธุกรรมระดับดีเอ็นเอสำหรับใช้อนุมานถึงกระบวนการเกิดวิวัฒนาการของพืชทั้งสองสปีชีส์นี้ที่มีถิ่นอาศัยในไทย

## ถิ่นอาศัยและการกระจายพันธุ์ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล

ถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลที่ใช้ในการทดลองนี้เก็บเมล็ดมาจากถิ่นอาศัยธรรมชาติ (ตารางที่ 1) นำมาเพาะในเรือนทดลอง และปลูกในกระถางเก็บไว้ที่เรือนทดลองที่มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ตารางที่ 1. ตัวอย่างเมล็ดถั่วแปบช้าง และกันภัยมหิดลที่เก็บจาก 13 แหล่ง ในประเทศไทย

| สปีชีส์ | จังหวัดที่เก็บตัวอย่าง | รหัส; ปี | ลักษณะของถิ่นอาศัย |
|---|---|---|---|
| *A. sericea* | มหาสารคาม | MSK 1; 1997 | ป่าวัฒนธรรม |
| | | MSK 2 1997 | ป่าวัฒนธรรม |
| | | MSK 3; 1997 | ริมถนน |
| | นครราชสีมา | NSM 1; 1997 | ภูเขา |
| | | NSM 2; 1997 | ริมถนน |
| | | NSM 3; 1998 | ภูเขา |
| | ชัยภูมิ | CYP 1; 1997 | ภูเขา |
| | | CYP 2; 1997 | ริมถนน |
| *A. mahidolae* | บุรีรัมย์ | BRM 1; 1997 | ภูเขา |
| | กาญจนบุรี | KAN 1; 1997 | ภูเขาหินปูน 1 |
| | | KAN 2; 1997 | ภูเขาหินปูน 1 |
| | | KAN 3; 1997 | ภูเขาหินปูน 1 |
| | | KAN 4; 1997 | ภูเขาหินปูน 2 |

## การศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมในประชากรธรรมชาติ

### *การสกัดดีเอ็นเอ*

ดีเอ็นเอทั้งหมด (Total DNA) สกัดจากใบอ่อนโดยใช้วิธี CTAB ที่ดัดแปลงเล็กน้อยจากวิธีการของ Doyle and Doyle (1987)

### *การวิเคราะห์ RAPD (RAPD analysis)*

ไพรเมอร์ที่มีขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ (ten-mer oligonucleotide primers) ที่ใช้ในกระบวนการ RAPD นั้นได้คัดเลือกจากผลของการทำ PCR ที่ให้ผลบวก คือ เกิดแถบ DNA จากกระบวนการ PCR ซึ่งมีองค์ประกอบต่างๆ ดังนี้ ปริมาตรที่ใช้ในการทำ PCR = 25 L ประกอบด้วย 2.5 L ของ 10x PCR buffer, 1.9 L ของ 25mM $MgCl_2$, 2 L ของ

2.5 mM dNTPs, 0.5 L ของ 10pM primer, 0.5 Units ของ Taq Polymerase และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ครบ 25 L สภาวะที่ใช้ในกระบวนการ PCR เป็นดังนี้ 94°C เป็นเวลา 4 นาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 45 รอบของเงื่อนไขดังนี้ 94°C เวลา 1 นาที, 36°C เวลา 1 นาที และ 72°C เวลา 2 นาที หลังจากนั้นใช้สภาวะที่ 72°C นาน 4 นาที จำนวน 1 รอบ ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณ DNA แบบสุ่มตามบริเวณต่าง ของยีโนมของพืชทั้งสองสปีชีส์ โดยใช้เทคนิคอะกาโรสเจล

อิเลคโตรฟอรีซีส หลังจากนั้นจะเป็นการคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการศึกษาต่อไป ซึ่งไพรเมอร์ที่ถูกคัดเลือกจะต้องเกิดแถบ DNA ที่เกิดซ้ำได้ (reproducible) และเป็นแถบ DNA ที่มีความเข้มของแถบที่ชัดเจน (strong band) จำนวนไพรเมอร์ที่คัดเลือกเพื่อใช้ในการทดลองกับถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล รวม 20 ไพรเมอร์ (ตารางที่ 2 และ 3) และตัวอย่างรูปแบบของแถบ DNA ที่ได้จากการทดลองแสดงในภาพที่ 3

ตารางที่ 2. Random oligonucleotide primers used in RAPD analysis of Afgekia sericea

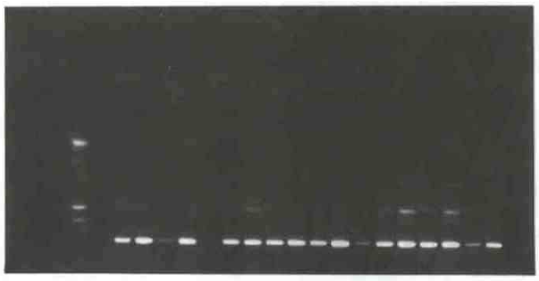
| Primer | Sequence (3' to 5') |
|---|---|
| OPB05 | TGCGCCCTTC |
| OPB07 | GGTGACGCAG |
| OPB10 | 5'CTGCTGGGAC |
| OPB12 | CCTTGACGCA |
| OPB20 | GGACCCTTAC |
| OPK06 | CACCTTTCCC |
| OPK11 | AATGCCCCAG |
| OPK13 | GGTTGTACCC |
| OPK15 | CTCCTGCCAA |
| OPK16 | GAGCGTCGAA |

ตารางที่ 3. Sequences of random primers used in the RAPD analysis of *Afgekia mahidolae*

| Code | Sequence (5' to 3') |
|---|---|
| OPAS-03 | ACGGTTCCAC |
| OPAS-04 | GTCTTGGGCA |
| OPAS-08 | GGCTGCCAGT |
| OPAS-09 | TGGAGTCCCC |
| OPAS-10 | CCCGTCTACC |
| OPAS-12 | TGACCAGGCA |
| OPAS-14 | TCGCAGCGTT |
| OPAS-15 | CTGCAATGGG |
| OPAS-18 | GTTGCGCAGT |
| OPAS-19 | TGACAGCCCC |

***การวิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรมจากข้อมูล RAPD***

การวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมเพื่ออธิบายโครงสร้างทางพันธุกรรมนั้น จะใช้สถิติวิเคราะห์รูปแบบของแถบ DNA ที่ได้จากการศึกษาในมวลสมาชิกของทุกประชากร โครงสร้างทางพันธุกรรมจะใช้ดัชนีชี้วัดต่างๆ แบ่งเป็น 2 แบบ คือ การวัดระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีอยู่ภายในประชากร (within-population geneti diversity) และการวัดระดับการกระจายของความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (genetic diversity between populations) ซึ่งมีสถิติที่ใช้วัดอยู่ 3 แบบ คือ 1) เปอร์เซ็นต์ของความหลากหลายของตำแหน่งของยีนแต่ละตำแหน่ง หรือ PPL (เป็นการสมมติว่าแถบ DNA แต่ละแถบนั้นเป็นตำแหน่งยีนแต่ละยีน หรือโลคัส (locus)) 2) ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity หรือ $h = 1-\sum p_i^2$) (Nei, 1973) และ 3) Shannon information index ที่ระบุความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีอยู่ภายในประชากรแต่ละประชากร ($H_{pop}/H_{sp}$) และความแปลกแยกแตกต่างทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นระหว่างประชากร ($(H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$) (Gustafsson and Gustafsson, 1994) และวัดระดับความแปลกแยกแตกต่างทางพันธุกรรมนี้สามารถวัดได้จากค่า Nei' s $G_{st}$ (Nei, 1987) ค่าความเหมือนกันทางพันธุกรรม (genetic identity, *I* ) และค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic distance, *D*) (Nei, 1978) ค่าเหล่านี้ถูกนำไปสร้างเป็นแผนภูมิ (dendrogram) ที่แสดงให้เห็นถึงภาพรวมของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม



ภาพที่ 3. ภาพถ่ายเจลที่แสดงรูปแบบของแถบ DNA ของมวลสมาชิกของถั่วแปบช้างที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดชัยภูมิโดยใช้เทคนิค RAPD ที่ใช้ไพรเมอร์ OPB-20

**โครงสร้างทางพันธุกรรมของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล**

โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรธรรมชาติของพืชทั้งสองสปีชีส์นี้สามารถอนุมานได้จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค RAPD และสถิติทางพันธุกรรม ดังแสดงในตารางที่ 4-9 จากตารางที่ 4-6 แสดงให้เห็นว่าถั่วแปบช้างมีความหลากหลายของยีน (*h*) เท่ากับ 0.145 มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ($H_o$) เท่ากับ 0.223 จากตารางแสดงองค์ประกอบของความหลากหลายทางพันธุกรรม (components of genetic diversity) ที่แสดงถึง

Shannon information index ซึ่งพบว่าประชากรของถั่วแปบช้างมีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรรวมทุกประชากรมีค่าเท่ากับ 0.518 (51.8%) และมีความแปลกแยกแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรมีค่าเท่ากับ 0.482 (48.2%) ซึ่งค่าหลังนี้เทียบกับค่าความแปลกแยกแตกต่างทางพันธุกรรมของ Nei (Nei' s $G_{st}$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.426 นั้น แสดงว่าความแปลกแยกแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรถั่วแปบช้างมีค่อนข้างสูง ดังนั้นแนวทางการอนุรักษ์พืชชนิดนี้จึงควรอนุรักษ์ไว้ในสภาพถิ่นเดิมทุกประชากร

ตารางที่ 4. Number of polymorphic loci, mean of effective number of alleles (ne), mean of gene diversity (h), and genetic diversity (H) estimated by the Shannon-information index.

| Population | Number of polymorphic loci | Percentage of polymorphic loci | Effective number of alleles (ne) | Gene diversity (h)** | Genetic diversity (H)* |
|---|---|---|---|---|---|
| CYP1 | 36 | 49.3 | 1.199 | 0.129 | 0.201 |
| CYP2 | 44 | 60.3 | 1.256 | 0.159 | 0.255 |
| NSM1 | 42 | 57.5 | 1.321 | 0.184 | 0.294 |
| NSM2 | 36 | 49.3 | 1.265 | 0.151 | 0.237 |
| NSM3 | 28 | 38.4 | 1.186 | 0.112 | 0.153 |
| MSK1 | 41 | 56.2 | 1.294 | 0.174 | 0.262 |
| MSK2 | 31 | 42.5 | 1.213 | 0.131 | 0.197 |
| MSK3 | 32 | 43.8 | 1.195 | 0.125 | 0.204 |
| BRM | 34 | 46.6 | 1.244 | 0.143 | 0.202 |
| Mean | 36 | 49.3 | 1.241 | 0.145 | 0.223 |

* H is the average, over all primers, of the Shannon's information index, $H = -\sum_{i=1}^{k} P_i \log_e P_i$, where k is the number of RAPD markers for a particular primer, and Pi denotes the frequency of the $i^{th}$ RAPD markers in a given population..

** $h = 1 - \sum_{i=1}^{k} P_i^2$

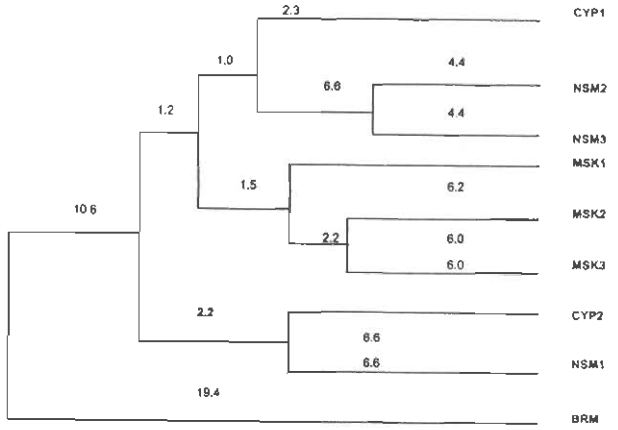
ตารางที่ 5. Components of genetic diversity in *A. sericea* from nine locations, partitioned into within and between populations for 10 random oligonucleotide primers.

| Primer | Hpop | Hsp | Hpop / Hsp | ( Hsp - Hpop) / Hsp |
|---|---|---|---|---|
| OPB05 | 0.244 | 0.556 | 0.439 | 0.561 |
| OPB07 | 0.385 | 0.550 | 0.701 | 0.299 |
| OPB10 | 0.075 | 0.395 | 0.191 | 0.809 |
| OPB12 | 0.146 | 0.359 | 0.408 | 0.592 |
| OPB20 | 0.166 | 0.277 | 0.599 | 0.401 |
| OPK06 | 0.231 | 0.376 | 0.616 | 0.384 |
| OPK11 | 0.331 | 0.479 | 0.692 | 0.308 |
| OPK13 | 0.273 | 0.508 | 0.538 | 0.462 |
| OPK15 | 0.207 | 0.527 | 0.393 | 0.607 |
| OPK16 | 0.175 | 0.292 | 0.599 | 0.401 |
| Mean | 0.224 | 0.432 | 0.518 | 0.482 |

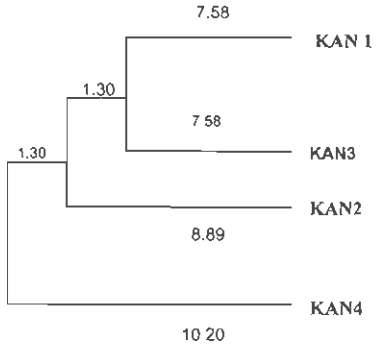
ตารางที่ 6. Nei's genetic diversity values and estimates of gene flow between *A. sericea* populations. Total genetic diversity(Ht), genetic diversity within populations (Hs), and the proportion of total genetic diversity found among populations (Gst) were calculated for all variable loci. Nm indicates the number of migrants per generation and has been calculated using Crow and Aoki (1984) equation after Ellstrand and Elam (1993).

| Primer | N | Hs | Ht | Gst | Nm |
|---|---|---|---|---|---|
| OPB05 | 269 | 0.161 | 0.377 | 0.529 | 0.176 |
| OPB07 | 269 | 0.262 | 0.369 | 0.283 | 0.501 |
| OPB10 | 269 | 0.047 | 0.235 | 0.840 | 0.038 |
| OPB12 | 269 | 0.102 | 0.209 | 0.476 | 0.217 |
| OPB20 | 269 | 0.123 | 0.200 | 0.203 | 0.778 |
| OPK06 | 269 | 0.152 | 0.230 | 0.342 | 0.380 |
| OPK11 | 269 | 0.223 | 0.223 | 0.296 | 0.471 |
| OPK13 | 269 | 0.181 | 0.332 | 0.442 | 0.249 |
| OPK15 | 269 | 0.211 | 0.250 | 0.586 | 0.140 |
| OPK16 | 269 | 0.116 | 0.211 | 0.264 | 0.551 |
| Mean | | 0.158 | 0.263 | 0.426 | 0.350 |

ในทำนองเดียวกันจากตารางที่ 7-9 นั้น แสดงให้เห็นว่ากันภัยมหิดลมีความหลากหลายของยีนเท่ากับ 0.147 และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.22 และจากตารางที่แสดงถึงองค์ประกอบของความหลากหลายทางพันธุกรรมของ Shannon information index นั้นพบว่า กันภัยมหิดลมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรที่ศึกษารวม 4 ประชากรนั้น มีค่าเท่ากับ 0.586 และระดับความแปลกแยกแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรมีค่าเท่ากับ 0.414 ในขณะที่ค่าความแปลกแยกแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของ Nei (Nei's $G_{st}$) นั้นมีค่าเท่ากับ 0.266 ทำนองเดียวกันในรูปแบบการกระจายของความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในประชากรของกันภัยมหิดลนั้น การอนุรักษ์พันธุกรรมของพืชชนิดนี้ต้องอนุรักษ์ทุกประชากรในสภาพถิ่นเดิม เมื่อมองในภาพรวมของความแปลกแยกแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรของพืชทั้งสองสปีชีส์ นั้นแสดงได้ในรูปแบบของแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในภาพที่ 4 และ 5




ภาพที่ 4. แสดงแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรทั้ง 9 ประชากรของถั่วแปบช้าง




ภาพที่ 5. แสดงแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (dendrogram) ระหว่างประชากรทั้ง 4 ประชากรของกันภัยมหิดล

ตารางที่ 7. Number of polymorphic loci, mean number of effective number of alleles (ne), and mean number of gene diversity (h) and genetic diversity (H) of the four populations of A. mahidolae estimated by the Shannon-information index.

| Population | Number of polymorphic loci | Percentage of polymorphic loci | Effective number of alleles | Gene diversity ( h )** | Genetic diversity ( H )* |
|---|---|---|---|---|---|
| KAN1 | 39 | 45.4 | 1.23 | 0.139 | 0.213 |
| KAN2 | 39 | 45.4 | 1.26 | 0.155 | 0.232 |
| KAN3 | 37 | 43.0 | 1.24 | 0.142 | 0.215 |
| KAN4 | 45 | 52.3 | 1.25 | 0.152 | 0.236 |
| Mean | 40 | 46.5 | 1.245 | 0.147 | 0.224 |

* $H$ is the average, over all primers, of the Shannon's information index, $H = -\Sigma^{k}_{i=1} P_i \log_e P_i$, where k is the number of RAPD loci obtained from the ten primers utilized, and $P_i$ denotes the frequency of the $i^{th}$ RAPD loci in a given population.
** $h = 1 - \Sigma^{k}_{i=1} P_i^{2}$

ตารางที่ 8. Components of genetic diversity in *A. mahidolae* from four populations (N = 77), partitioned into within and between populations for 10 random oligonucleotide primers.

| Primer | Hpop | Hsp | Hpop / Hsp | (Hsp - Hpop) / Hsp |
|---|---|---|---|---|
| OPAS03 | 0.178 | 0.383 | 0.465 | 0.535 |
| OPAS04 | 0.215 | 0.308 | 0.698 | 0.302 |
| OPAS08 | 0.289 | 0.455 | 0.635 | 0.365 |
| OPAS09 | 0.218 | 0.258 | 0.845 | 0.155 |
| OPAS10 | 0.064 | 0.085 | 0.753 | 0.247 |
| OPAS12 | 0.145 | 0.414 | 0.350 | 0.650 |
| OPAS14 | 0.345 | 0.578 | 0.597 | 0.403 |
| OPAS15 | 0.302 | 0.369 | 0.818 | 0.182 |
| OPAS18 | 0.241 | 0.476 | 0.506 | 0.494 |
| OPAS19 | 0.157 | 0.349 | 0.450 | 0.550 |
| Mean | 0.215 | 0.368 | 0.586 | 0.414 |

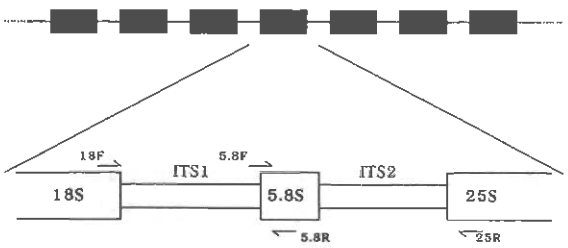
ตารางที่ 9. Nei's genetic diversity values and estimates of gene flow between *A. mahidolae* populations. Total genetic diversity (*Ht*), genetic diversity within populations (Hs), and the proportion of total genetic diversity found among populations (*Gst*) were calculated for all variable loci. *Nm* indicates the number of migrants per generation and has been calculated using Crow & Aoki (1984) equation after Ellstrand & Elam (1993).

| Primer | N | Hs | Ht | Gst | Nm |
|---|---|---|---|---|---|
| OPAS03 | 77 | 0.116 | 0.256 | 0.337 | 0.389 |
| OPAS04 | 77 | 0.143 | 0.197 | 0.177 | 0.918 |
| OPAS08 | 77 | 0.192 | 0.305 | 0.287 | 0.491 |
| OPAS09 | 77 | 0.143 | 0.155 | 0.089 | 2.022 |
| OPAS10 | 77 | 0.035 | 0.039 | 0.039 | 4.867 |
| OPAS12 | 77 | 0.097 | 0.274 | 0.453 | 0.239 |
| OPAS14 | 77 | 0.218 | 0.401 | 0.409 | 0.285 |
| OPAS15 | 77 | 0.200 | 0.243 | 0.116 | 1.505 |
| OPAS18 | 77 | 0.153 | 0.309 | 0.424 | 0.268 |
| OPAS19 | 77 | 0.106 | 0.229 | 0.329 | 0.403 |
| Mean | | 0.140 | 0.241 | 0.266 | 1.139 |

## การเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการระดับดีเอ็นเอของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล

### *การเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการในระดับ DNA บริเวณ ITS1 และ ITS2 และยีน rbcL ในคลอโรพลาสต์*

จากสมมติฐานซึ่งตั้งโดยอาศัยการอนุมานจากหลักฐานที่มีรายงานมาก่อนนี้ว่า ถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลเกิดจากบรรพบุรุษเดียวกันและมีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการกลายเป็นพืชคนละสปีชีส์นั้น ถ้ามีผลเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของพืชทั้งสองสปีชีส์นี้มาเป็นหลักฐานสนับสนุนด้วย จะทำให้สมมติฐานนี้เป็นที่ยอมรับมากขึ้น การศึกษาเลือกใช้ดีเอ็นเอบริเวณ ITS ทั้ง 2 บริเวณซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของพืชทั้งสองสปีชีส์นี้ได้เป็นอย่างดี การศึกษา DNA บริเวณนี้ทำโดยการเพิ่มปริมาณโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ที่ใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบโดย Mummenhoff et al. (1997) แสดงในไดอะแกรมของภาพที่ 6 ในปฏิกิริยาลูกโซ่ปริมาตร 50 L ประกอบด้วย 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM KCl และ 0.1% Triton X-100, 1.5 mM $MgCl_2$, 160 M dNTPs, 20 M primer และดีเอ็นเอประมาณ 150 ng และ Taq polymerase (Promega) 1 Unit ปฏิกิริยาลูกโซ่ทำในเครื่องควบคุมอุณหภูมิปฏิกิริยาลูกโซ่ Hybaid (Hybaid thermal cycler) โดยตั้งโปรแกรมไว้ดังนี้ 94°C 3 นาที จำนวน 1 รอบ 94°C, 1 นาที; 55°C, 1 นาที และ 72°C, 2 นาที จำนวน 35 รอบ




18F = GGA AGG AGA AGT CGT AAC AAG G
5.8F = CTT CTG GCC GAG GGC ACG TC
5.8R = GCT ACG TTC TTC ATC GAT GC
25R = TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

ภาพที่ 6. ไดอะแกรมแสดงหน่วยซ้ำๆกันของยีน rDNA ในนิวเคลียส ใน 1 หน่วยของยีนนี้จะประกอบด้วยบริเวณ non-coding ITS1 และ ITS2 และ coding regions และแต่ละหน่วยของยีน rDNA แยกจากกันโดยมีดีเอ็นเอบริเวณ intergenic spacer regions (IGS) เป็นตัวเชื่อมต่อระหว่างแต่ละหน่วย และลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์แต่ละชนิดที่ใช้ในการศึกษา (ดัดแปลงจาก Mummenhoff et al., 1997)

ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับเพิ่มปริมาณยีน rbcL จะใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสที่ออกแบบโดย Kass and Wink (1997) ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้

rbcL N : 5' ATG TCA CCA CAA ACA GAA ACT AAA GC 3'

rbcL R : 5' TAT CCA TTG CTG GGA ATT CAA ATT TG 3'

ซึ่งไพรเมอร์คู่นี้จะสามารถใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่บริเวณยีน rbcL ทั้งหมด และดีเอ็นเอบริเวณตอนปลายของยีน 18s RNA และ ดีเอ็นเอบริเวณตอนต้นของยีน 26s RNA

องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่ประกอบด้วยดีเอ็นเอปริมาณ 150 นาโนกรัม ไพรเมอร์ rbcL N/rbcL R ปริมาณ 20 pM, $MgCl_2$ 1.5 mM, dNTPs 100 μL และ Taq Polymerase 2 Units(Promega) ในปฏิกิริยาลูกโซ่ ได้ตั้งโปรแกรมไว้ดังนี้ 94°C, 3 นาที จำนวน 1 รอบ 94°C, 1 นาที; 54°C, 1 นาที และ 72°C, 2 นาที จำนวน 35 รอบ และ 72°C, 5 นาที 1 รอบ

เทคนิคที่ใช้ตรวจสอบว่าผลลัพธ์ของปฏิกิริยาลูกโซ่ คือ PCR product เกิดขึ้นหรือไม่ จะใช้เทคนิคดีเอ็นเออะกาโรสเจลอิเลคโตรฟอริซิสตรวจสอบ โดยใช้ PCR product ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ของ ITS1 หรือ ITS2 หรือ ยีน rbcL ผสมกับ 6X loading dye ในอัตราส่วน 5: 1 ใช้อะกาโรสเจล 1.4%, 0.5 X TBE ใช้ความต่างศักย์ 75 โวลต์ ในเวลาประมาณ 120 นาที และย้อมอะกาโรสเจลด้วยเอทิเดียมโบรไมด์ ส่องดู PCR product ภายใต้แสง UV

เมื่อพบว่าปฏิกิริยาลูกโซ่สามารถให้ผลลัพธ์ PCR products ได้จากผลการตรวจสอบตามวิธีการข้างต้นจากนั้นทำ PCR product ให้บริสุทธิ์ก่อนจะนำดีเอ็นเอที่ได้ไปวิเคราะห์ลำดับเบส โดยใช้ QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) วิธีการและขั้นตอนต่างๆ ทำตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต

การวิเคราะห์ลำดับเบสในสายดีเอ็นเอทั้งสาม คือ ITS1, ITS2 และ ยีน rbcL จะใช้วิธี direct sequencing โดยวิเคราะห์ลำดับเบสทั้ง 2 สายของดีเอ็นเอแต่ละประเภท โดยใช้ไพรเมอร์แต่ละคู่ที่สามารถใช้ในกระบวนการปฏิกิริยาลูกโซ่ดังที่กล่าวไปแล้ว วิธีการวิเคราะห์ลำดับเบสในสายดีเอ็นเอจะใช้ Taq Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem) ที่ทำตามขั้นตอนของบริษัทผู้ผลิตที่ได้แนะนำไว้ รวมทั้งการอ่านผลเพื่อระบุชนิดของนิวคลีโอไทด์จะใช้เครื่องมือวิเคราะห์ลำดับเบสแบบอัตโนมัติ (ABI 737A auto sequencer) ซึ่งตัวอย่าง PCR products จะถูกวิเคราะห์ลำดับเบส โดยหน่วยบริการชีวภาพ (BIOSERVICE UNIT) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

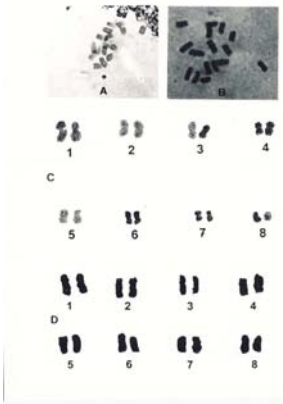
***การเปรียบเทียบลำดับเบส (Sequence Analysis)***

1. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS1, ITS2 และยีน rbcL ระหว่างถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลนำมาเปรียบเทียบกัน (alignment) โดยใช้โปรแกรม BLAST (Tatusova and Madden, 1999) โดยกำหนดเกณฑ์ว่าการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์นั้นจะเลือกลำดับที่สามารถเปรียบเทียบกันได้ (select among possible alignment)

2. % GC content คำนวณโดยนับจำนวนเบส 2 ชนิดนี้ และเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์จากจำนวนนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด

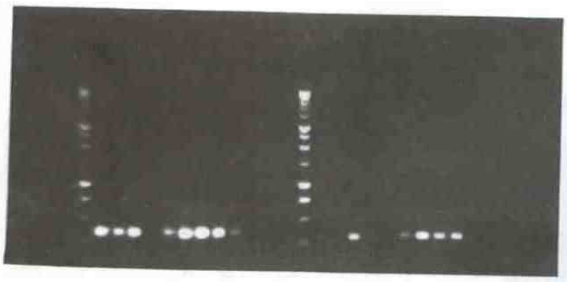
3. สำหรับยีน rbcL นั้น ลำดับนิวคลีโอไทด์ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลจะเปรียบเทียบกับพืชในวงศ์ถั่วชนิดหนึ่ง คือ *Millettia japonica* ซึ่งมีความใกล้ชิดกัน โดยพืชสกุล *Afgekia* นั้นมีสัณฐานวิทยาของดอกคล้ายคลึงกันกับพืชที่อยู่ในสกุล *Millettia* ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL ของ *Millenttia japonica* นั้นได้จาก GenBank database (Accession number U 74233) โดยใช้โปรแกรม Clustal W Version 1.7

ดีเอ็นเอบริเวณ ITS1 และ ITS2 ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลที่เป็นผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่ (amplified fragment) มีขนาดประมาณ 350 bp (ภาพที่ 7) แต่เมื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับเบส พบว่าเครื่องวิเคราะห์ลำดับเบสอัตโนมัติ สามารถอ่านได้ประมาณ 260 bp สำหรับ ITS1 และ 279 bp สำหรับ ITS2 (ตารางที่ 10)

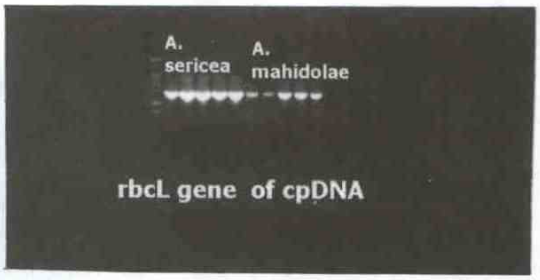



ภาพที่ 7. แสดงจำนวนโครโมโซม (2n=16) และรูปพรรณสัณฐานของไมโทติกโครโมโซม ของถั่วแปบช้าง (A และ C) และกันภัยมหิดล (B และ D)

การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1 พบว่าโปรแกรม BLAST สามารถเปรียบเทียบได้เพียง 73 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 38 ถึง 116 ใน ITS1 ของถั่วแปบช้าง กับตำแหน่งที่ 44 ถึง 110 ใน ITS1 ของกันภัยมหิดล (ภาพที่ 8) และใน ITS2 ของพืชทั้งสองสปีชีส์ โปรแกรมสามารถเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ทั้งสิ้น 214 bp



ภาพที่ 8. ภาพถ่ายเจลแสดง DNA บริเวณ ITS1 และ ITS2 ของถั่วแปบช้างที่เพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR




ภาพที่ 9. ภาพถ่ายเจลแสดง DNA ที่เป็นยีน rbcL ที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ที่เพิ่มจำนวนยีนนี้ด้วยเทคนิค PCR

ตารางที่ 10. Aligned DNA sequences of the ITS1 and ITS2 of *Afgekia mahidolae* and *A. sericea*. Gaps are indicated by "_". The sequence of ITS1 is 262 sites in length but only the 73 sites (indicated by shading) for which a satisfactory alignment was performed by BLAST. N, uncertain nucleotide states.

```
Taxa          ITS1
                1                                                          76
A. mahidolae  ACCACCATNC GTTGCCGACN TCTTCTCATA CGCACCG- - - --- GGGCACCGCCCGCACGAGCACCNTTTNCGGGTC
                1                                                          76
A. sericea    ACCTACATAT TTTTGCTGAG AGTCATTCTC CATCACGCAC TGA GGGCACCGCCTGCACAAGCACCATTTCTGGGTC
               77                                                         147
A. mahidolae  GACGNGGGTG CACCGGACAA ATTTCAATTC AGTTCCTTGA CGCATTCCGC GCNGGGGGTT CTCGAGTTTG
               77                                                         147
A. sericea    AACGAGGGTG CACCGNACGA ATTTAATTTA ANTTCCTTGA AGANTTCCTA GCCAAGGGTT NTTAATTTNG
              148                                                         218
A. mahidolae  GCCCAGAAGGG AACATGCCTG ACAGTGCCCT TTCTATAGCT TAGAGCAGGG TCCAAACANA TTACAAGGTT
              148                                                         218
A. sericea    NCCAAAAGGG AAATTNCNCT ANAATTCCCC TTCCAAACTT ATACCAATNT CCTGATCAAT ACAACCGTTT
              219                                                         262
A. mahidolae  GGATCTTCNC TTAAGGGAAT TACAATAAAT CTTTTGCANA GGT
              219                                                         262
A. sericea    GNTTTTTTTC NAAGGGCATT CACATTAATC TTTNAGAAGG GTT
Taxa          ITS2
                1                                                          60
A. mahidolae  ACCTAAGTCT AACGTGAGCA TCC- CAGAT- CACGTCTGTT ATAGAACCCG AGTTTAGAAA
A. sericea    ACCTAGGTCT ATCGTGAGCA TCCGCAGATGCACATAGGTT ACAAAGCTAG AGTTTAGTAG
               61                                                         120
A. mahidolae  GGCAGCATAC AATCATTCTC GAGCATCCGT CGTACACCAT GCATCACGAC CCACCCCCCT
A. sericea    GGCAGCATGT GATCAATCTC GAGCATCCCT CGTTCAACAT GGCTCAC- - -- - - - - CCTACT
              121                                                         180
A. mahidolae  ACAGTCTCAC TTTTCAACAA GCCCGGAGAT AGAGCAACTC ACAGGAGGCG AACATTCACC
A. sericea    ACAGACTCAC TTTTCAACAA GCCAGGAGAC AGACCAACTC GTGGGAGGTC AACATTCACC
              181                                                         214
A. sericea    CAGCACACGA CTGTTGGCTA GGTGGTATGG GGCA
A. sericea    CAGCACGCGA TTGTTGGGTA GATGGCATGG GGCA
```

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ ITS1 และ ITS2 ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลนั้นได้เปรียบเทียบบริเวณทั้ง 2 ระหว่างกันและกัน พบว่า ITS2 มี 46 คุณลักษณะ (46 variable characters) ประกอบด้วยการเปลี่ยนแปลงแทนที่นิวคลีโอไทด์ 37 ลักษณะ ซึ่งแบ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงแทนที่ระหว่างเบสกลุ่มพิวรีน (purine: A/G) กับไพริมิดีน (pyrimidine: C/T) เรียกการเปลี่ยนแปลงแทนที่ในลักษณะนี้ว่า “ทรานส์เวอร์ชัน (transversion: TV)” 17 แห่ง และการเปลี่ยนแปลงของเบสภายในกลุ่มพิวรีนหรือไพริมิดีน ซึ่งเรียกว่า “ทรานสิชัน (transition: TS)” 20 แห่ง และคุณลักษณะอีกอย่างหนึ่งของการเปลี่ยนแปลงที่พบ คือ การขาดหายไปหรือเพิ่มขึ้นของเบส (insertion / deletion หรือเรียกว่า “indel”) มี 9 แห่ง ส่วนการเปลี่ยนแปลงของเบสในบริเวณ ITS1 ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลนั้นพบว่ามี 8 คุณลักษณะ จากการเปรียบเทียบ 73 นิวคลีโอไทด์ คือ พบเฉพาะการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบสเท่านั้น สัดส่วนระหว่าง TS : TV มีค่าเท่ากับ 1.18 และ 1.0 ใน ITS2 และ ITS1 ตามลำดับ เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ของนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนแปลง

ไป (nucleotide divergence) หรือมีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการโดยใช้หลักฐานจากการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 18% สำหรับ ITS1 และ 22% สำหรับ ITS 2

ตารางที่ 11. Aligned rbcL sequence of *Millettia japonica*, *A. mahidolae* and *A. sericea*. Gaps are indicated by "_" N, uncertain nucleotide states.

| Taxa | rbcL | |
|---|---|---|
| | 1 15 16 30 31 45 46 60 61 75 76 90 | |
| *Millettia japonica* | GNARTACDSGTTGGG TTCCAAGCTGGTGTT AAAGATTATAAATTG AATTATTATACTCCT GACTATGAAACCAAA GATACTGATATCTTG | 90 |
| *Afgekia mahidolae* | -----AAGTGTTGGG TTCAAAGCTGGTGTT AAAGATTATAAATTA ACTTATTATACTCCT GAGTATGAAACCAAA GATACTGATATCTTG | 85 |
| *A. sericea* | -----AAGTGTTGGG TTCAAAGCTGGTGTT AAAGATTATAAATTA ACTTATTATACTCCT GAGTATGAAACCAAA GATACTGATATCTTG | 85 |
| | 91 105 106 120 121 135 136 150 151 165 166 180 | |
| *Millettia japonica* | GCAGCATTCCGAGTA TCTCCTCAACCTGGA GTTCCGCCTGAAGAA GCAGGTGCTGCGGTA GCAGCCGAATCTTCC ACTGGGACATGGACA | 180 |
| *Afgekia mahidolae* | GCAGCATTCCGAGTA ACTCCTCAACCTGGA GTTCCCCCTGAAGAA GCAGGTGCTGCGGTA GCAGCCGAATCTTCT ACTGGGACATGGACA | 175 |
| *A. sericea* | GCAGCATTCCGAGTA ACTCCTCAACCTGGA GTTCCCCCTGAAGAA GCAGGTGCTGCGGTA GCAGCCGAATCTTCT ACTGGGACATGGACA | 175 |
| | 181 195 196 210 211 225 226 240 241 255 256 270 | |
| *Millettia japonica* | ACTGTGTGGACCGAT GGGCTTACCAGTCTT GATCGTTATAAAGGA CGATGCTACCACATC GAGCCCGTTGCTGGA GAAGAAAATCAATTT | 270 |
| *Afgekia mahidolae* | ACCGTGTGGACCGAT GGGCTTACCAGTCTT GATCGTTATAAAGGA CGATGCTACGGCATC GAGCCCGTTGCTGGA GAAGAAAATCAATAT | 265 |
| *A. sericea* | ACCGTGTGGACGGAT GGGCTTACCAGTCTT GATCGTTATAAAGGA CGATGCTACGGCATC GAGCCCGTTGCTGGA GAAGAAAATCAATTT | 265 |
| | 271 285 286 300 301 315 316 330 331 345 346 360 | |
| *Millettia japonica* | ATTGCTTATGTAGCT TATCCCTTAGACCTT TTTGAAGAAGGTTCT GTTACTAACATGTTT ACCTCCATTGTAGGT AATGTATTTGGGTTC | 360 |
| *Afgekia mahidolae* | ATTGCTTATGTAGCT TATCCCTTAGACCTT TTTGAAGAAGGTTCT GTTACTAACATGTTC ACCTCCATTGTAGGT AATGTATTTGGGTTC | 356 |
| *A. sericea* | ATTGCTTATGTAGCT TATCCCTTAGACCTT TTTGAAGAAGGTTCT GTTACTAACATGTTC ACCTCCATTGTAGGT AATGTATTTGGGTTC | 355 |
| | 361 375 376 390 391 405 406 420 421 435 436 450 | |
| *Millettia japonica* | AAGGCCTTGCGCGCT CTACGTCTGGAGGAT TTGCGAATCCCTATT TCTTATGTTAAAACT TTCCAAGGTCCGCCT CACGGAATCCAAGTT | 450 |
| *Afgekia mahidolae* | AAGGCCTTGCGCGCT CTACGTCTGGAGGAT TTGAGAATTCCTGTT TCTTATATTAAAACT TTCCAGGGTCCG- CT NACGGAATCCAATCT | 444 |
| *A. sericea* | AAGGCCTTGCGCGCC CTACGTCTGGAGGAT TTGAGAATTCCCGTT TCTTATATTAAAACT TTCCAGGGTCCG-CT CACGGAATCCAATCT | 444 |
| | 451 465 466 480 481 495 496 510 511 525 526 540 | |
| *Millettia japonica* | GAGAGAGATAAATTG AACAAGTATGGCCGT CCCCTATTGGGATGT ACTATTAAACCTAAA TTGGGGTTATCCGCT AAGAATTACGGTAGA | 540 |
| *Afgekia mahidolae* | GAGAGAGATAAATTG AATAAGTATGGGCG- TCCCTATTGGGATG- TCTATTAAACCTAAA TTGGGATTATCCGCT AAGAATTCCGGTAGA | 532 |
| *A. sericea* | GAGAGAGATAAATTG AATAAGTATGGTCGT CCCCTATTGGGATG- TCTATTAAACCAAAA TTGGGATTATCCGCT AAGAATTACNGTNGA | 533 |
| | 541 555 556 570 571 585 586 600 601 615 616 630 | |
| *Millettia japonica* | GCAGTTTATGAATGT CTCCGCGGGGGACTT GATTTTACCAAAGAT GATG- AAAATGTGAA CTCCCAACCATTTAT GCGTT - GGAGAGACC | 628 |
| *Afgekia mahidolae* | NCAGNTTATGAATGT CTCN -CNGAGGACTT GATTTTACCAAAGAT GATG- AAAATGTGAA CTNCCACC- - TTTAT GCGTTNGGANANACC | 618 |
| *A. sericea* | NCAGTTTATGAATGT CTNCNNGGAGGACTT GATTTT- CCAAAGAT GATGAAAAATGNGAC TTNCCAACC - TTTAT GCNTN -GGANANACC | 620 |

GC content ใน ITS1 และ ITS2 ของพืชทั้งสองสปีชีส์ที่คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่าบริเวณ ITS2 ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลมีค่าเท่ากับ 56% และ 50.9% ตามลำดับ และบริเวณ ITS1 มีค่าเท่ากับ 49.3% และ 58.9% ตามลำดับ

***การศึกษาความหลากหลายของยีน rbcL ในประชากรของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP***

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน rbcL ในคลอโรพลาสต์ของมวลสมาชิกในประชากรของถั่วแปบช้าง 9 ประชากร และกันภัยมหิดล 4 ประชากร จะใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบโดย Kass and Wink (1997) ที่ได้กล่าวถึงในตอนต้น รวมทั้งเงื่อนไขและองค์ประกอบของสารต่างๆ ในปฏิกิริยา PCR ก็ใช้แบบเดียวกัน หลังจากเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแล้ว ตรวจสอบ PCR products โดยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเลคโตรฟอริซิสที่สภาวะเงื่อนไข คือ อะกาโรส 1.5% , 0.5 X TBE, ความต่างศักย์ 80 โวลต์ และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอทิเดียมโบรไมด์ หลังจากนั้น จึงตัดดีเอ็นเอที่เป็น PCR products ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 6 ชนิด คือ เอนไซม์ Alu I, Hpa II, Hae III, Rsa I, Hinc II และ Tha I โดยส่วนประกอบต่างๆ นั้นทำตามขั้นตอนตามที่บริษัทผู้ผลิตระบุไว้ แล้วอุ่นที่ 37°C นาน 6-8 ชั่วโมง จึงตรวจสอบผลการตัดดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคอะกาโรสเจลอิเลคโตรฟอริซิส ที่สภาวะเงื่อนไข อะกาโรส 2%, 0.5 x TBE ,ความต่างศักย์ 80 โวลต์ และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอทิเดียมโบรไมด์

ในการวิเคราะห์จำนวนแถบของดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดเอนไซม์ตัดจำเพาะ โดยใช้เทคนิคอะกาโรสเจลอิเลคโตรฟอริซิสนั้นจะใช้ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณที่ยังไม่ได้ตัด (uncut amplified rbcL gene) run ควบคู่กันไปเสมอเป็น negative control

การวิเคราะห์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของพืชทั้งสองสปีชีส์นี้ ได้ข้อมูลจาก RFLP จะใช้สัมประสิทธิ์ของดิวซ์ (Dice' s coefficient) (Sneath & Sokal, 1973) คือ

$1 - D = Ndiff_{xy}/(totalN_{xy})$

เมื่อ $Ndiff_{xy}$ = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ไม่ปรากฏในสิ่งมีชีวิต (หรือตัวอย่าง) x และ y (number of non-matching fragments in sample x and y)

$totalN_{xy}$= จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดในสิ่งมีชีวิต (หรือตัวอย่าง) x และ y (total number of fragments in sample x and y)

D = Dice's coefficient

***ยีน rbcL การเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของนิวคลีโอไทด์ในถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล***

ผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่ของยีน rbcL ของพืชทั้งสองสปีชีส์มีขนาดประมาณ 1.4 kb แต่สามารถวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ได้เพียง 649 นิวคลีโอไทด์ (ภาพที่ 9 และ ตารางที่ 11) จากผลของการใช้โปรแกรม BLAST 2 SEQUENCES version BLASTN 2.09 (Tatusova and Madden, 1999) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL ในคลอโรพลาสต์ที่สามารถเปรียบเทียบกันได้ระหว่างพืชสองสปีชีส์นี้มีจำนวน 586 bp (รวม "gap" ด้วย 3 gap) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนนี้ ผลจากการเปรียบเทียบพบว่าลำดับของนิวคลีโอไทด์มีการเปลี่ยนแปลง (nucleotide diverge) เท่ากับ 3% นิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกัน (nucleotide identity) เท่ากับ 97%

การเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ พบว่ามี 2 คุณลักษณะ คือ การเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบส และการเพิ่มหรือขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ ซึ่งสรุปรวมเป็น 9 ลักษณะ คือ การเปลี่ยนแปลงแทนที่นิวคลีโอไทด์มี 7 ลักษณะ แบ่งเป็น TS 2 แห่ง และ TV 5 แห่ง สัดส่วนของ TS : TV มีค่าเท่ากับ 0.4 มีการเพิ่มขึ้นและขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ 3 ตำแหน่ง (indel หรือ gap)

GC content ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL ที่เปรียบเทียบกันนั้นคิดเป็น 41.8 และ 41.6 % ในถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล ตามลำดับ

***ความสัมพันธ์ระดับโมเลกุลโดยใช้เทคนิค PCR-RFLP ในยีน rbcL ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล***

ความยาวนิวคลีโอไทด์ของยีน rbcL ที่รายงานผลจากการศึกษานี้คือ 630 นิวคลีโอไทด์ (รวมทั้ง gap ด้วย) การเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพืชทั้งสองชนิด พบว่ามีเพียง 3% ของจำนวน นิวคลีโอไทด์ทั้ง 630 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งผลการศึกษานี้ขัดแย้งกับการศึกษาของ Kass and Wink (1997) ที่ศึกษาในพืชวงศ์ย่อย Papilionoideae โดยรายงานว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชวงศ์ย่อยนี้ยาวประมาณ 1,420 นิวคลีโอไทด์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ (เปลี่ยนแปลงแทนที่, ขาดหายไป, เพิ่มขึ้นมา) เกิดขึ้นกับนิวคลีโอไทด์ของพืช 75 สปีชีส์ที่ได้ศึกษา

เมื่อเปรียบเทียบเพื่อหาจุดเริ่มต้น (นิวคลีโอไทด์ตำแหน่งที่ 1) โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชที่มีความใกล้ชิดกับพืชสกุลถั่วแปบช้าง คือ *Millettia japonica* พบว่าตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ 6 ของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลตรงกับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่งที่ 1 ของ *Millettia japonica* ถ้าต้องการทราบถึงการเกิดการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของยีน rbcL นี้ ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีนนี้ต้องวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยสมบูรณ์ให้ได้เสียก่อน อย่างไรก็ตาม การเบี่ยงเบนของนิวคลีโอไทด์ที่พบว่ามี 3% นั้น แสดงให้เห็นว่าถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล มีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของยีน rbcL

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษายีน rbcL ในกล้วยไม้วงศ์ Cypripediodeae โดย Albert (1994) ซึ่งสรุปว่านิวคลีโอไทด์ที่เบี่ยงเบนเกิดขึ้นในกล้วยไม้วงศ์นี้ในระดับสกุล ทำให้สามารถได้ข้อมูลจัดทำเป็นแผนภาพความสัมพันธ์ระดับสกุลได้

หลักฐานที่แสดงว่ายีน rbcL ของถั่วแปบช้างที่มีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการน้อยนั้นสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชทั้งสองสปีชีส์ที่ได้ ดัชนีชี้วัด คือ ค่าสัมประสิทธิ์ของดิวซ์ ที่มีค่าเท่ากับ 0.96 แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของยีน rbcL ของพืชทั้งสองสปีชีส์เกิดขึ้นน้อยมาก แม้ว่าจะแยกกันมาเป็นระยะเวลาหลายล้านปีมาแล้ว

## บทสรุป

การเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอบริเวณที่เรียกว่า non-coding sequence เช่น ITS, IGS (Intergenic sequence) หรือ ไมโครแซทเทลไลต์ จะมีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ในระดับที่สูงกว่ายีนหรือดีเอ็นเอบริเวณที่เรียกว่า coding region เช่น rbcL, rpocl และ ndhF (Kim and Jansen, 1995) ซึ่งผลการศึกษาในดีเอ็นเอทั้ง ในถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล มีความสอดคล้องกับรายงานที่ศึกษากับพืชอื่นๆ เช่น พืชวงศ์ Asteraceae (Bayer et al., 1996), พืชวงศ์ Nothofagaceae (Manos, 1997) เป็นต้น

จากค่าสัมประสิทธิ์ของดิวซ์ (Dice's coefficient) ที่แสดงถึงระดับความเหมือนกันทางพันธุกรรมของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดล ซึ่งมีค่าสูงถึง 0.96 นั้น แสดงให้เห็นว่า พืชทั้งสองสปีชีส์นี้มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมสูงมาก

อย่างไรก็ตาม การเลือกบริเวณดีเอ็นเอที่จะใช้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมนั้น มีข้อเสนอแนะว่าควรใช้ดีเอ็นเอที่มีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการอยู่ในอัตราที่สูง ซึ่งยีน rbcL ในคลอโรพลาสต์มีอัตราการเกิดการเปลี่ยนแปลงต่ำมาก อาจสรุปได้ว่ายีน rbcL ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ดังนั้นจึงควรเลือกดีเอ็นเอบริเวณอื่นๆ ที่ให้ข้อมูลเพียงพอที่จะบ่งบอกถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ดีกว่าดีเอ็นเอเหล่านี้ เช่น ยีน ndhF ในคลอโรพลาสต์ (Olmstead and Sweere, 1994; Olmstead and Reeves, 1995; Scotland et al., 1995) ส่วนยีน rbcL นั้นนิยมนำไปใช้ในการอนุมานการจัดระบบสิ่งมีชีวิตในระดับวงศ์ (Family level)

โดยทั่วไปสายสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogeny) ในระดับวงศ์ หรือวงศ์ย่อย (subfamily) เพื่อจัดระบบสิ่งมีชีวิต (systematic) ที่อนุมานจาก rRNA และ cpDNA นั้นนิยมกันมาก ได้แก่ พืชวงศ์หญ้า (grass family) (Hamby and Zimmer, 1992) ซึ่งใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 18s และ 26s rbcL ในคลอโรพลาสต์ (Doebley et al. 1990) อย่างไรก็ตาม สาเหตุที่ยีนส่วนที่ coding regions ของ rRNA และ rbcL ของ cpDNA มีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการน้อยมาก (evolutionarily conserved) จึงไม่เหมาะสมที่จะเลือกยีนเหล่านี้มาใช้ในการวินิจฉัยความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม (closely related taxa) (Hsiao et al. 1994)

ดีเอ็นเอบริเวณ ITS ของ nuclear ribosomal RNA เป็นบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์สูงมาก (rapidly evolving sequence) จึงถูกเลือกมาใช้ในการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetically informative character) ในระดับระหว่างสกุล (interspecific level) (Kim and Jansen, 1995) เช่น มีรายงานการศึกษาของ Jeandroz et al. (1997) ที่ศึกษาในพืชสกุล *Fraxinus* เป็นต้น นอกจากนี้ยีนหรือดีเอ็นเอ บริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ในอัตราที่สูงที่นิยมนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืช ได้แก่ ยีน matk, rpoC1 และ ndhF ซึ่งยีนเหล่านี้จะมีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์ในอัตราที่สูงกว่ายีน rbcL เช่น รายงานการศึกษาของ Kim and Jansen (1995) ที่ศึกษาในวงศ์ทานตะวัน (Sunflower family; Asteraceae)

ในกรณีดีเอ็นเอของคลอโรพลาสต์ส่วนที่เป็น coding และ non-coding regions นั้น Curtis and Clegg (1984) ได้สรุปว่า บริเวณ non-coding จะมีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการได้เร็วกว่าดีเอ็นเอบริเวณ coding regions ซึ่งส่วนมากจะมีการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์แบบเพิ่มนิวคลีโอไทด์ หรือนิวคลีโอไทด์ขาดหายไป ซึ่งมีอัตราอย่างน้อยที่สุดเท่ากับอัตราการเปลี่ยนแปลงแบบการเปลี่ยนแปลงแทนที่นิวคลีโอไทด์

ดังนั้นการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืชที่มีความใกล้ชิดกันในระดับสปีชีส์ ซึ่งเป็นหน่วยที่ใช้แยกสิ่งมีชีวิต (taxonomic level) หรือ ใช้ศึกษาในสิ่งมีชีวิตที่อยู่ระดับต่ำกว่าสปีชีส์ จึงนิยมใช้ดีเอ็นเอบริเวณ non-coding ของ cpDNA เหล่านี้เป็นเครื่องมือในการศึกษา

หลักฐานจากการศึกษาดังที่ได้กล่าวมานี้เป็นสิ่งชี้ให้เห็นว่าพืชทั้งสองสปีชีส์แยกจากกันหรือกลายเป็นสปีชีส์ใหม่จากที่มีบรรพบุรุษร่วมกันมานานแล้ว ซึ่งสันนิษฐานว่าบรรพบุรุษของถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลเริ่มแยกจากกันและเกิดสปีชีส์ใหม่ในช่วงเวลาหลายล้านปีที่ผ่านมา การศึกษาการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการในระดับดีเอ็นเอในถั่วแปบช้างและกันภัยมหิดลนี้ เป็นการศึกษาครั้งแรกและได้สรุปผลจากข้อมูลที่ได้จากยีนบางยีนเท่านั้น ถ้าจะให้มีความสมบูรณ์ในการอธิบายถึงวิวัฒนาการอย่างลึกซึ้งนั้น ต้องอาศัยผลจากการศึกษาในทำนองเดียวกันนี้เพิ่มเติมอีก

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT143018

## เอกสารอ้างอิง

Albert. V. 1994. Cladistic relationships of the slipper orchids (Cypripedioideae: Orchdaceae) from congruent morphological and molecular data. *Lindleyana* 9: 115-132.

Appels, R. and R.L. Honeycut., 1986. rDNA: evolution over a billion Years, pp. 81-135 in DNA systematics, vol. II Plants, edited by S.K. Dutta. Boca Raton, Florida.

Baldwin, B.G. 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in Plants: an example from the compositae. *Mol. Phylo. Evol.* 1: 3-16.

Baldwin, B.G., M.J. Sanderson, J.M. Porter, M.F. Wojciechowski, C.S. Campbell and M.J. Donoghue. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 82: 247-277.

Bayer, R.J., D.E. Soltis, and P.S. Soltis. 1996. Phylogenetic inferences in Antennaria (Asteraceae: Gnaphalieae: Cassiniinae) based on sequences from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS). *Am. J. Bot*. 83: 516-527.

Burtt, B.L. and C. Chermsirivathana. 1971. A second species of *Afgekia* (Leguminosae) B.L. Burtt and C. Chermsirivathana. Reprint from the Royal Botanic Garden Edinburgh 30: 131-133.

Chalmers, K., J.R. Waugh, J.I. Sprent, A.J. Simons and W. Powell. 1992. Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers. *Heredity* 69: 465–472.

Chen, W. 1992. Restriction fragment length polymorphisms in enzymatically amplified ribosomal DNAs of three heterothallic *Pytium* species. *Phytopathology* 82: 1467-1472.

Clegg, M.T., G.H. Learn and E.M. Golenberg.1991. Molecular evolution of chloroplast DNA, pp. 135-149 in Evolution at the molecular level, edited by R.K. Selander, A.G. Clark, and T.S. Whittam. Inauer. Sunderland, MA.

Clegg, M.T. 1993. Chloroplast gene sequences and the study of plant evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 363-367.

Clegg, M.T., M.P. Cummings and ML. Durbin. 1997. The evolution of plant nuclear genes. Proc. Nat Acad. Sci. USA 94: 7791-7798.

Curtis, S.E. and M.T. Clegg. 1984. Molecular evolution of chloroplst DNA sequences. *Mol. Biol. Evo.* 1: 129-301.

Doebley J., M. Durbin, EM Golenberg, MT. Clegg and Ma DP 1990. Evolutionary analysis of the large subunit of decarboxylase (rbcL) nucleotide sequence among the grasses (gramineae). *Evolution* 44: 1097-1108.

Doyle, J.J. and J.L. Doyle, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. *Bull* 19: 11-15.

Geesink, R. 1984. *Scala millettiearum*: A survey of the genera of *Millettieae* (Leguminosae–Papilionoideae) with methodological considerations. E. J. Brill Leiden University Press, Leiden.

Gustafsson, L. and P. Gustafsson. 1994. Low genetic variation in Swedish populations of the rare species *Vicia pisiformis* (Fabaceae) revealed with rflp (r DNA) and RAPD. *Plant Systematics and Evolution* 189: 133–48.

Hamby, R.K. and E.A. Zimmer,1992. Ribosomal RNA as a phylogenetic tool in plant systematics, pp. 50-91 in Molecular systematics of plants, edited by P.S. Loltis, D.E. Soltis and J.J. Doyle. Chapman & Hall, New York.

Haymer, D.S. 1994. Random amplified polymorphic DNAs and microsatellites: What are they, and can they tell us anything we don't already know ? *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87: 717-722.

Hsiao, C., N.K. Chatterton, K.H. Asay and KB. Jensen. 1994. Phylogenetic relationships of ten grass species: an assessment of phylogenetic utility of the internal transcribed spacer region in nuclear ribosomal DNA in monocots. *Genome* 37:112-120.

Hsiao, J.Y. and L.H. Rieseberg. 1993. Genetic variability of a population of *Yushania niitakayamensis* (Bambusoideae, Poaceae) in Taiwan as revealed by RAPDs. *Am. J. Bot.* 80(Suppl.): 56.

Huenneke, L.F. 1991. Ecological implications of genetic variation in plant populations, pp. 31-44 in Genetics and conservation of rare plants, edited by D.A. Falk and K.E. Holsinger. Oxford University, Oxford, UK. Jeandroz, S. , Roy, A. and Bousquet, J. 1997. Phylogeny and phylogeography of the Curcumpolar Genus Fraxinus (Oleaceae) based on internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 7: 241-251.

Kass, E. and M. Wink. 1997. Phylogenetic relationships in the *Papilionoideae* (Family Leguminosae) based on nucleotide sequences of cpDNA (rbcL) and ncDNA (ITS1 and 2). *Mol. Phylogen. Evol*. 8: 65-88.

Kim, K.-J. and R.K. Jansen. 1995. ndhF sequence evolution and the major clades in the sunflower family. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92: 10379-10383.

Manos, P.S. 1997. Systematics of Nothofagus (Nothofagaceae) based on rDNA spacer sequences (ITS): taxonomic congruence with morphology and plastid sequences. *Am. J. Bot.* 84: 1137-1155.

Mummenhoff, K., A. Pranzke and M. Koch. 1997. Molecular phylogenetics of Thlaspi S.L. (Brassicaceae) based on chloroplast DNA restriction site variation and sequences of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. *Can. J. Bot*. 75: 469-482.

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc Natl Acad Sci 70: 3321–23.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, NY
Olmstead, R. G. and P.A. Reeves, 1995. Evidence for the polyphyly of the Scrophulariaceae based on chloroplast rbcL and ndhF sequences. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 82: 176-193.
Olmstead, R. G. and J. A. Sweere, 1994. Combining data in phylogenetic systematics: An empirical approach using three molecular data set in the Solanaceae. *Syst. Biol*. 43: 467-481.
Palmer, J.D. 1987. Chloroplast DNA evolution and biosystematic uses of chloroplast DNA variation. *Am. Nat.* 130: s6-s26.
Palmer, J.D., R.K. Jansen, H.J. Michaels, M.W. Chase and J.R Manhart. 1988. Chloroplast DNA variation and plant phylogeny. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 75: 1180-1206.
Prathepha, P. 1994. Chromosome number of the genus *Afgekia* Craib (Leguminosae). *Cytologia* 59: 437-438.
Prathepha, P. and V Baimai. 1999a. Cytological and morphological characteristics of two closely related species of the genus *Afgekia* Craib (Leguminosae) from Thailand. *Mahidol Journal.* 6: 23-26.
Rabinowitz, D. 1981. Seven forms of rarity, pp. 205-217 in The biological aspects of rare plant
Sappal, N.P., R.S. Jeng, M.Hubbes and F. Liu, 1995. Restriction fragment length polymorphisms in polymerase chain reaction amplified ribosomal DNAs of three *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species. *Genome.* 38: 419-425.
Scotland, R.W., J. A Sweere, P.A. Reeves and R. G. Olmstead. 1995. Higher-level systematics of Acanthaceae determined by chloroplast DNA sequences. *Am. J. Bot*. 82: 266-275.
Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. San Francisco: W.H. Freeman
Tatusova, T.A. and T.L. Madden. 1999. Blast 2 sequences – a new tool for comparing protein and nucleotide sequences. *FEMS Microbiol Lett.* 174: 247-250.
Xie, Z.W., S.Ge , K.Q. Wang and D.Y. Hong. 2000. Evaluation of *in situ* conservation of *Oryza rufipogon* populations using RAPD markers. *IRRN* 25(2): 17-18.
Yasui, Y. and O. Ohnishi. 1996. Comparative study of rbcl gene in Fagopyrum and related taxa. Genes & Genet. *Syst.* 71: 219-224.

# ความหลากหลายและพันธุศาสตร์เชิงประชากรของสปีชีส์ของริ้นดำในประเทศไทย

**เฉลียว กุวังคะดิลก[1], ชัยณรงค์ บุญเข็มทอง[2] และสุวรรณี พยุหเสนา[1]**

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

[2]ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สวทช. 73/1 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

## Abstract: Diversity and Population Genetics of *Simulium* Species in Thailand

On the basis of external morphological characters of larvae and pupae, a total of 42 *Simulium* species consisting of 30 known species, 6 unknown species (*Simulium* sp. H, J, L, e, g and k) and 6 new species (*S. chaliowae*, *S. chainarongi*, *S. triglobus*, *S. baimaii*, *S. chumpornense* and *S.* sp. G), collected from 91 localities in northern, eastern, northeastern, central and southern Thailand, were identified and placed into 13 species-groups within 6 subgenera and 1 unknown subgenus of the genus *Simulium* Latreille s.l. The distribution of some *Simulium* species is restricted to some localities in northern, northeastern and southern Thailand. Additionally, the distribution and abundance of the larvae collected from 9 localities correlate with altitude and some physio-chemical parameters such as water temperature, water velocity and hardness. Eighteen *Simulium* species within 4 subgenus, i.e., subgenus *Gomphostilbia* (*S. angulistylum*, *S. asakoae*, *S. decuplum*, *S. siamense* and *S.* sp. g), subgenus *Nevermannia* (*S. caudisclerum* and *S. feuerborni*), subgenus *Simulium* (*S. chiangmaiense*, *S. chainarongi*, *S. fenestratum*, *S. nakhonense*, *S. nobile*, *S. nodosum*, *S. quinquestriatum*, *S. rudnicki*, *S. rufibasis* and *S. tani*) and subgenus *Montistriatum* (*S.* sp. G), that were cytologically studied have 3 pairs of chromosomes (2N=6) which are arranged from the longest to the shortest. The polytene chromosome banding patterns of these species are species-specific, although some banding sequences in the short arms of chromosomes II and III are homologous. Moreover, the wild populations of 8 species have paracentric inversions in some chromosome arms, but there is no indication of sex linkage associated with inversion sequences in these populations. Thus the X and Y chromosomes of these species could not be recognized in this study. However, the C-banding technique successfully revealed that band 84B2 on the chromosome arm IIIL of *S. nakhonense* is a sex-linked heterochromatic band, which is involved in differentiation of genetic X-chromosomal and Y-chromosomal segments.

**Key words**: *Simulium*, polytene chromosome, paracentric inversions

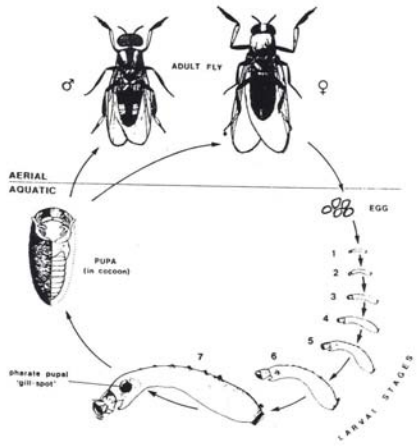
## บทนำ

ริ้นดำ (Black flies) เป็นแมลงมีปีกขนาดเล็ก รูปร่างอ้วนสั้น และมีสีลำตัวแตกต่างกัน ตั้งแต่สีน้ำตาลเข้ม น้ำตาลแดง เทา ส้ม ไปจนถึงเหลือง แต่ส่วนมากมีสีค่อนข้างดำ แมลงริ้นดำจัดอยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Simuliidae สกุล *Simulium* ในปี ค.ศ. 1991 มีรายงานการค้นพบริ้นดำทั้งหมดจำนวน 1,570 ชนิด จำแนกอยู่ใน 24 สกุล (Crosskey, 1993) ปัจจุบันมีการค้นพบริ้นดำชนิดใหม่ ๆ เพิ่มขึ้นอีกจำนวนมาก โดยเฉพาะในทวีปเอเชีย (Takaoka, personal communication) ริ้นดำตัวเมียที่เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขและเศรษฐกิจในหลายประเทศตามแถบภูมิภาคต่าง ๆ ของโลกมี 4 สกุล คือ *Simulium*, *Austrosimulium*, *Prosimulium* และ *Cnephia* สกุลที่ใหญ่ที่สุดและมีความสำคัญมากที่สุดคือ สกุล *Simulium* ซึ่งประกอบด้วยริ้นดำประมาณ 1,203 ชนิด จำแนกอยู่ใน 46 สกุลย่อย (Crosskey, 1993) แมลงริ้นดำในสกุล *Simulium* แพร่กระจายในภูมิภาคต่าง ๆ ของโลกที่มีน้ำไหลถาวรและเพียงพอต่อการเจริญพัฒนาของตัวอ่อน แมลงริ้นดำส่วนใหญ่ที่พบในภูมิภาคเอเชียรวมทั้งประเทศไทยเป็นริ้นดำสกุล *Simulium* ซึ่งในอดีตได้มีรายงานการค้นพบเพียง 110 ชนิด แต่ปัจจุบันมีการค้นพบประมาณ 300 ชนิด ซึ่งเป็นสปีชีส์ที่ได้รายงานแล้วจำนวน 240 ชนิด และที่ยังไม่ได้รายงานและเป็นสปีชีส์ใหม่อีก 60 ชนิด (Takaoka, unpublished data) Takaoka (1996) ได้ทำการศึกษาแบบแผนการกระจายของริ้นดำกลุ่มย่อยและสกุลย่อยในสกุล *Simulium* ในภูมิภาคตะวันออกไกล (อินเดีย อินโดจีน จีนตอนใต้ ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย) และภูมิภาคออสเตรเลีย (ออสเตรเลียและนิวซีแลนด์) อย่างไรก็ตาม ยังมีการศึกษาริ้นดำค่อนข้างน้อยในประเทศอินโดนีเซีย พม่า จีนตอนใต้ และประเทศในแถบอินโดจีน รวมทั้งประเทศไทย

ในอดีตมีรายงานเกี่ยวกับริ้นดำในประเทศไทยน้อยมาก Summer (1911) ได้รายงานริ้นดำชนิด *Simulium nigrogilvum* เป็นครั้งแรกในประเทศไทย ต่อมา Edwards (1928) ได้รายงานเพิ่มอีก 2 ชนิด คือ *S. hackeri* และ *S. digrammicum* หลังจากนั้นไม่พบผู้ใดศึกษาริ้นดำในประเทศไทยอีกจนกระทั่ง Takaoka and Suzuki (1984) ได้รายงานการศึกษาริ้นดำที่เก็บจากบริเวณภาคเหนือของประเทศไทยเป็นครั้งแรกจำนวน 19 สปีชีส์ ต่อมาได้มีการศึกษาเพิ่มขึ้นอีก 7 ชนิด รวมเป็น 26 ชนิด (Takaoka and Saito, 1996; Takaoka and Adler, 1997) ในระหว่างปี ค.ศ. 1996-1999 ภายใต้การสนับสนุนของโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) ได้มีการศึกษาความหลากหลายของชนิดและการแพร่กระจายของตัวอ่อนริ้นดำในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย (Kuvangkadilok, et al., 1999a; เฉลียว และคณะ, 2544)) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับตัวแปรของสิ่งแวดล้อม (environmental variables) และคุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมีของแหล่งเพาะพันธุ์ รวมทั้งได้ทำการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์และพันธุศาสตร์เชิงประชากรของตัวอ่อนริ้นดำด้วย (Kuvangkadilok et al., 1998, 1999b, 1999c) ซึ่งจะได้รายงานผลการวิจัยในรายงานนี้

**ชีพจักร (life cycle) ของแมลงริ้นดำ**

ชีพจักรของริ้นดำมี 4 ระยะ เหมือนกับแมลงทั่ว ๆ ไป คือ ระยะไข่, ตัวอ่อน, ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัย ระยะไข่ถึงระยะดักแด้เป็นระยะที่ใช้ชีวิตอยู่ในน้ำไหล มีแต่ระยะตัวเต็มวัยเท่านั้นที่มีชีวิตอยู่บนบก (ภาพที่ 1) ระยะเวลาที่แมลงริ้นดำเจริญพัฒนาจากไข่ไปจนถึงตัวเต็มวัยแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสปีชีส์และอุณหภูมิของน้ำ (Peterson, 1984) ริ้นดำในแถบภูมิภาคอาฟริกาซึ่งมีอากาศค่อนข้างร้อนสามารถวางไข่ติดต่อกันตลอดปี อาจมี 15-20 รุ่นในหนึ่งปี ช่วงระยะเวลาการเจริญพัฒนาของริ้นดำในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน (species complex) ชนิด *S. damnosum* ทางแถบตะวันตกของอาฟริกามีดังนี้ ระยะไข่ 2-5 วัน ระยะตัวอ่อน 4-18 วัน (ปกติ 7-12 วัน) ตัวดักแด้ 2-5 วัน สำหรับริ้นดำกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. ochraceum* ในประเทศกัวเตมาลาอเมริกากลาง ระยะไข่ใช้เวลา 3-10 วัน ตัวอ่อน 4-15 วัน และตัวดักแด้ 4-6 วัน แมลงริ้นดำที่อาศัยในภูมิภาคอากาศเย็นและอากาศหนาวแถบอาร์คติกจะมีวงจรชีวิตเพียงปีละหนึ่งรุ่นเท่านั้น หลังจากที่ตัวเมียวางไข่ ไข่อาจจะไม่ฟักเป็นตัวเป็นเวลาหลายเดือน หรือไข่จะฟักเป็นตัวอ่อนอย่างรวดเร็วแต่ตัวอ่อนเจริญเติบโตช้ามากตลอดช่วงฤดูหนาว (Crosskey, 1993)

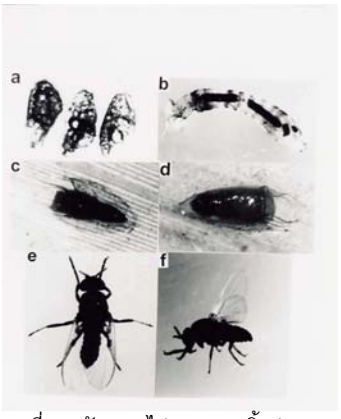


ภาพที่ 1. ชีพจักรของแมลงริ้นดำชนิด *Simulium damnosum* ที่เป็นพาหะสำคัญของโรค onchocerciasis ในทวีปอาฟริกา

ไข่: ตัวเมียวางไข่เป็นกลุ่มประมาณ 150-600 ฟอง บนก้อนหิน เศษวัสดุต่าง ๆ ลำต้นและใบของพืชน้ำและหญ้าที่อยู่ในน้ำไหล การที่ไข่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มเนื่องจากอิทธิพลของฮอร์โมนฟีโรโมนที่ตัวเมียหลั่งออกมาขณะวางไข่ ไข่มีขนาดเล็กมากและมีความยาวตั้งแต่ 0.18-0.46 มิลลิเมตร ลักษณะของไข่เป็นรูปสามเหลี่ยมรี ๆ ที่มีลักษณะคล้ายรูปไตที่ด้านหนึ่งโป่งนูนออกมาเล็กน้อย (ภาพที่ 2a) เปลือกหุ้มไข่ค่อนข้างเรียบ ระยะเวลาที่ไข่ของแต่ละสปีชีส์ฟักเป็นตัวอ่อนต่างกัน ตั้งแต่ 4 ถึง 30 วัน ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิของน้ำและอากาศ แต่อาจใช้เวลานานกว่านี้ในสปีชีส์ที่ไข่ต้องผ่านระยะพัก (diapause) ในเขตอากาศร้อนไข่จะออกเป็นตัวภายใน 1 หรือ 2 วันเท่านั้น เช่น ไข่ของริ้นดำกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. damnosum* ในอาฟริกา ใช้เวลา 1-3 วัน แต่ไข่ของริ้นดำกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. metallicum* ในอเมริกากลาง ใช้เวลา 3-20 วัน (Davies and Crosskey, 1991)

ตัวอ่อน: ตัวอ่อนมีลักษณะเรียวยาวและมีด้านล่างของลำตัวกว้างกว่าด้านบน (ภาพที่ 2b) ตัวอ่อนของริ้นดำแต่ละชนิดมีความยาวแตกต่างกัน ตั้งแต่ 5-15 มิลลิเมตร ลำตัวมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลดำ ส่วนหัวมีปลอกหุ้ม มีตา 1 คู่ และมี cephalic fan (labral fan) 1 คู่ cephalic fan ประกอบด้วยเส้นแกนจำนวนหลายเส้นและมีเส้นเล็ก ๆ สั้น ๆ แตก

ออกจากเส้นแกนเป็นจำนวนมาก เส้นแกนเหล่านี้สามารถแผ่ออกมาเป็นรูปครึ่งวงกลมคล้ายพัด ทำหน้าที่กรองอาหารขนาดเล็ก ๆ จากน้ำไหลเข้าสู่ปาก ตัวอ่อนริ้นดำมีอวัยวะยึดเกาะ 2 ตำแหน่ง คือ proleg เป็นส่วนที่ยื่นออกมาจากปล้องแรกของส่วนอก บริเวณส่วนปลายของ proleg ประกอบด้วยเส้นเล็กๆ ที่มีลักษณะคล้ายตะขอ (hook) เรียงเป็นวงกลม เรียกว่า anterior circlet ซึ่งทำหน้าที่ยึดเกาะกับก้อนหินหรือพืชน้ำเพื่อช่วยในการเคลื่อนที่ นอกจากนี้บริเวณท้ายสุดของลำตัวมี posterior circlet ที่มีเส้นเล็ก ๆ คล้ายตะขอเรียงเป็นวงรอบ ช่วยในการยึดเกาะและเคลื่อนที่เช่นกัน ตัวอ่อนอาศัยและเจริญเติบโตในน้ำไหล จะปล่อยเส้นใยเหนียวที่ผลิตจากต่อมน้ำลายออกมา โดยจะปั่นเส้นใยเหนียวให้เป็นตาข่ายติดอยู่กับก้อนหินหรือพืชน้ำเพื่อให้ posterior circlet ยึดเกาะ ซึ่งทำให้ตัวมันยึดติดกับที่ไม่ไหลไปกับกระแสน้ำ ตัวอ่อนส่วนมากจะยึดลำตัวติดกับก้อนหิน พืชน้ำและต้นหญ้าที่ห้อยอยู่ในน้ำไหล แต่มีริ้นดำ 2-3 ชนิดที่ชอบเกาะอยู่กับสัตว์น้ำพวกอาร์โทปอด เช่น หอยสองฝา ปู และกุ้ง หรือตัวอ่อนของแมลงปอสกุล *Odonata* และแมลงชีปะขาวสกุล *Ephemeroptera* เพื่อการมีชีวิตรอด ตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. neavei* ซึ่งเป็นพาหะสำคัญนำพยาธิ *Onchocerca volvulus* ในอาฟริกา ชอบอาศัยอยู่บนกระดองและโคนก้ามปูแม่น้ำสกุล *Potamonautes* โดยจะอาศัยอยู่กับปูตั้งแต่เป็นตัวอ่อนระยะแรกจนกระทั่งออกเป็นตัวเต็มวัย (Crosskey, 1993) ตัวอ่อนมีระยะการเจริญเติบโต 6-7 ระยะ หรือ 6-9 ระยะ แล้วแต่สปีชีส์ บางครั้งภายในสปีชีส์เดียวกันอาจมีระยะการเจริญของตัวอ่อนต่างกัน ตัวอ่อนที่เจริญถึงขั้นสุดท้าย คือ ระยะ 7 หรือระยะ 9 คือตัวอ่อนที่เจริญเป็นตัวดักแด้ระยะแรกแล้ว (pharate pupae) จะมีจุดดำ (gill spots) ซึ่งสังเกตได้ชัดเจนจำนวน 1 คู่ ตรงบริเวณด้านข้างระหว่างปล้องที่ 1 และ 2 ภายใน gill spots จะเป็น histoblasts ของขาและปีกที่กำลังเจริญบนตัวสองข้างของส่วนอก และเป็น histoblasts สีเข้มของ pupal gills ซึ่งเป็นอวัยวะที่ช่วยในการหายใจ (respiratory organ) ช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตของตัวอ่อนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ เช่น ริ้นดำกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนชนิด *S. damnosum* ในอาฟริกาตะวันตกที่มีอุณหภูมิอากาศสูงกว่า 30°C อาจใช้เวลาเพียง 4 วันเท่านั้น โดยจะลอกคราบทุกวันในช่วงที่มีการเจริญเติบโตเร็ว



ภาพที่ 2. ลักษณะไข่ของแมลงริ้นดำ (a), ตัวอ่อน (b), ตัวดักแด้ลักษณะคล้ายรองเท้าแตะ (c), คล้ายรองเท้าหุ้มส้น (d), ตัวเต็มวัยเพศเมีย ด้านบน (e) และด้านข้าง (f)

ตัวดักแด้: ตัวอ่อนที่เจริญเติบโตเต็มที่ในระยะสุดท้ายใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงในสร้างปลอกหุ้มตัว (cocoon) ซึ่งจะลอกคราบเปลี่ยนเป็นตัวดักแด้อยู่ภายในปลอกหุ้มนั้น ปลอกหุ้มดักแด้มีลักษณะต่างกัน 2 แบบ คือ แบบรองเท้าแตะ (ภาพที่ 2c) และแบบร้องเท้าหุ้มส้น (ภาพที่ 2d) ลักษณะรูปร่างของปลอกหุ้มตัวดักแด้สามารถใช้วินิจฉัยแยกชนิดของริ้นดำได้ ส่วนหัวและอกของดักแด้รวมเป็นส่วนเดียวกัน เรียกว่า cephalothorax บริเวณ cephalothorax จะมี pupal gills 1 คู่ (คือ gill spots ของตัวอ่อน) ที่ประกอบด้วยเส้นเล็ก ๆ ใช้เป็นอวัยวะช่วยหายใจ มีจำนวนตั้งแต่ 2 เส้นขึ้นไป ขนาด ลักษณะ จำนวน และแบบแผนการเรียงตัวของเส้นของ pupal gills สามารถใช้เป็นหลักในการแยกกลุ่มและชนิดของริ้นดำได้ค่อนข้างถูกต้องและแม่นยำ ช่วงชีวิตของตัวดักแด้ค่อนข้างสั้นประมาณ 2-17 วัน (ปกติ 3-6 วัน)

ตัวเต็มวัย: หลักจากตัวดักแด้เจริญเต็มที่ ก็จะออกจากปลอกหุ้มเป็นตัวเต็มวัยในช่วงเวลากลางวัน ซึ่งขึ้นอยู่กับแสงสว่างและอุณหภูมิ ตัวเต็มวัยของริ้นดำมีขนาดเล็ก และรูปร่างอ้วนสั้น ลำตัวมีความยาวตั้งแต่ 1.2-5.5 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมีย (ภาพที่ 2e, 2f) สามารถแยกออกจากตัวผู้ได้โดยการสังเกตลักษณะการเรียงของตาคู่ที่มีขนาดใหญ่ ตาใหญ่สองข้างของตัวเมียจะอยู่แยกกันไม่เรียงชิดกันเหมือนของตัวผู้ และตาเล็ก (facets) ที่มีจำนวนมากซึ่งประกอบกันเป็นตาใหญ่ของตัวเมียมีขนาดเท่ากันหมด ในขณะที่ตาเล็กที่อยู่ด้านครึ่งบนของตาใหญ่ของตัวผู้มีขนาดใหญ่กว่าตาเล็กที่อยู่ทางครึ่งล่าง หนวดของตัวเต็มวัยค่อนข้างอ้วนและตรง ริ้นดำตัวผู้จะกินเฉพาะน้ำหวานจากดอกไม้เป็นอาหาร ริ้นดำตัวเมียบางชนิดจะดูดเลือดคนและสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังเป็นอาหารเพื่อการเจริญของไข่ อวัยวะดูด (proboscis) ของตัวเมียค่อนข้างสั้น นอกจากนี้ส่วนต่าง ๆ ของปากที่ประกอบด้วยขากรรไกรบนและขากรรไกรล่างที่หยักเหมือน

ฟันเลื่อย เพื่อใช้สำหรับตัดผิวหนังและดูดเลือดค่อนข้างแข็งแรง ในขณะที่ส่วนต่าง ๆ ของปากของริ้นดำชนิดที่ไม่ดูดเลือดและริ้นดำตัวผู้จะดัดแปลงสำหรับดูดน้ำหวาน ริ้นดำจะกัดและดูดเลือดคนและสัตว์ในช่วงเช้าและเย็นเท่านั้น

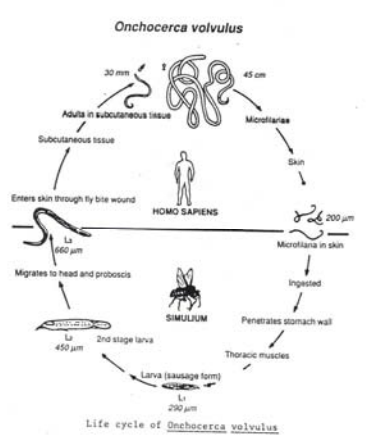
**ความสำคัญของริ้นดำทางการแพทย์**

แมลงริ้นดำตัวเมียสกุล *Simulium* ประมาณ 20 ชนิด เป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ โดยเป็นพาหะนำตัวอ่อน (filarial nematode) ของพยาธิชนิด *Onchocerca volvulus* มาสู่คนที่อาศัยในเขตร้อนแถบทวีปอาฟริกา อเมริกากลาง และอเมริกาใต้ ซึ่งมีผลทำให้เกิดเป็นโรค onchocerciasis หรือ river blindness (Crosskey, 1993) เนื่องจากตัวอ่อนไมโครฟิลาเรีย (microfilariae) ของพยาธิจะบุกรุกเข้าไปบริเวณประสาทตาและเรตินา ทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นเกิดการอักเสบและบวมแข็ง มีผลทำให้คนป่วยมองไม่เห็นและตาบอดในที่สุด องค์การอนามัยโลกได้จัดให้โรค onchocerciasis เป็นหนึ่งในหกโรคสำคัญของคนที่ต้องควบคุมเพราะเป็นโรคที่ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสังคมและเศรษฐกิจในชุมชนของประเทศ ซึ่งมีผลทำให้การพัฒนาความเจริญทางด้านเศรษฐกิจและสังคมของประชากรในชุมชนลดลง เนื่องจากคนที่ป่วยเป็นโรคนี้ส่วนใหญ่สายตาจะเสียและตาบอด ทำให้ไม่สามารถประกอบอาชีพและดำเนินชีวิตในครอบครัวให้เป็นปกติได้ คาดว่ามีคนป่วยเป็นโรค onchocerciasis ประมาณ 30 ล้านคนในทวีปอาฟริกา และประมาณ 30% มีสายตาเสียและมากกว่า 10% เกิดอาการตาบอด นอกจากจะทำให้เกิดโรค onchocerciasis แล้ว ริ้นดำยังทำให้เกิดโรคผิวหนังเรื้อรัง (onchocercomas) เนื่องจากตัวเต็มวัยของพยาธิที่อยู่ใต้ผิวหนังจะถูกห่อหุ้มด้วยผลผลิตจากปฏิกิริยาของโฮสท์ (host) ทำให้ผิวหนังเกิดเป็นก้อนกระจายอยู่ตามอวัยวะต่าง ๆ เห็นเด่นชัด บางครั้งก้อนเนื้อนี้อาจกลายเป็นฝีหรือตัวอ่อนของพยาธิภายในจะเปลี่ยนไปเป็นก้อนแข็งที่ไม่เจ็บปวดหรือทำให้เกิดอาการป่วย ตำแหน่งการเกิดของ onchocercomas มีความสัมพันธ์กับอุปนิสัยชอบกัดของแมลงในท้องที่ภายในเฉพาะ (specific endemic area) ในอเมริกากลาง onchocercomas เกิดส่วนบนของร่างกายเหนือระดับเอวขึ้นมาเนื่องจากริ้นดำในอเมริกากลางชอบกัดส่วนบนของร่างกาย ขณะที่ในอาฟริกาและเวเนซูเอลลา onchocercomas เกิดส่วนล่างของร่างกายระดับใต้เอวลงไป ตัวเต็มวัยของ *O. volvulus* ไม่เป็นอันตรายต่อโฮสท์มากนัก แต่ตัวอ่อนเป็นตัวที่ทำให้เกิดโรค บางครั้งมันจะถูกย่อยโดยริ้นดำ แต่ตัวที่อยู่ใต้ผิวหนังจะทำให้เกิดโรคผิวหนังรุนแรง (dermatitis) เนื่องจากโฮสท์เกิดอาการแพ้หรือเกิดจากพิษหลังจากตัวอ่อนตาย อาการเริ่มแรกคือ เกิดอาการคัน ตามด้วยการลดรงควัตถุสีที่ผิวหนัง (dyspigmentation) ซึ่งควบคู่ไปกับการขาดวิตามินเอเนื่องจากตัวอ่อนพยาธิรบกวนกระบวนการเมทาบอลิซึมของวิตามินเอ ผิวหนังสูญเสียการยืดหยุ่น การสูญเสียรงควัตถุจะแผ่ขยายกว้างขึ้นโดยเฉพาะบริเวณขา ทำให้เกิดการวินิจฉัยโรคผิดว่าเป็นโรคเรื้อน ถ้าถูกริ้นดำกัดมาก ๆ อาจทำให้เกิดอาการไข้ ปวดหัว คลื่นไส้ และมีอาการหอบหืด เรียก “ไข้ริ้นดำ” (black fly fever) ดังมีรายงานการเกิดไข้ริ้นดำของทหารอากาศที่ประจำอยู่สถานีเรดาร์บนยอดดอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่ นอกจากนี้ตัวอ่อนของพยาธิยังมีผลทำให้ต่อมน้ำเหลืองบวม อักเสบ อุดตัน และอาจกลายเป็นโรคเท้าช้างประเภทหนึ่งได้

แมลงริ้นดำยังสามารถนำพยาธิชนิด *Mansonella ozzardi* มาสู่คนได้เช่นกัน และนำพยาธิ *Onchocerca* ชนิดอื่นไปสู่สัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่าได้ เช่น นำพยาธิชนิด *O. gutterosa* ไปสู่วัว และ *O. tarsicola* ไปสู่กวาง นอกจากนี้ริ้นดำยังสามารถถ่ายทอดโปรโตซัวสกุล *Trypanosoma* และ *Leucocytozoon* ที่อยู่ในเลือดในระหว่างพวกสัตว์ปีก และมีบทบาทสำคัญในการถ่ายทอด arboviruses และเป็นพาหะของโรค myxomatosis ในกระต่าย (Kettle, 1990)

Crosskey (1981a) ได้รายงานชนิดของริ้นดำจำนวน 43 ชนิด ที่เป็นอันตราย ก่อความรำคาญ รบกวน และเป็นพาหะนำโรคมาสู่คนและสัตว์เลี้ยง ในจำนวนนี้มี 37 ชนิดอยู่ในสกุล *Simulium* 4 ชนิดอยู่ในสกุล *Austrosimulium* อย่างละ 1 ชนิดในสกุล *Prosimulium* และ *Cnephia* ส่วนใหญ่แมลงริ้นดำเหล่านี้เป็นตัวก่อความรำคาญ รบกวนคนและสัตว์เลี้ยง มีเพียง 10 ชนิดเท่านั้นที่เกี่ยวข้องกับการนำโรคมาสู่คน แมลงริ้นดำที่เกี่ยวข้องกับ bovine onchocerciasis มี 2 ชนิด และอีก 6 ชนิดเป็นพาหะของโปรโตซัวสกุล *Leucocytozoon* แมลงริ้นดำที่เป็นพาหะสำคัญนำโรค onchocerciasis ในอาฟริกา คือ กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. damnosum* และกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. neavei* ในอเมริกากลาง (ประเทศกัวเตมาลา เม็กซิโก และโคลัมเบีย) มีกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. ochraceum*, กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. metallicum* และกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. exiguum* s.l. ในอเมริกาใต้ (ประเทศบราซิล) มีกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. guianense* (Davies and Crosskey, 1991)

**ชีพจักรของ *Onchocerca volvulus***




ภาพที่ 3. ชีพจักรของพยาธิชนิด *Onchocerca volvulus*

ริ้นดำตัวเมียบางชนิดเท่านั้นที่ต้องการเลือดเพื่อการเจริญเติบโตของรังไข่ เมื่อริ้นดำตัวเมียที่มีตัวอ่อนของพยาธิ *O. volvulus* อยู่ภายในตัวมากัดคนและดูดเลือดโดยใช้ขากรรไกรตัดเข้าไปในผิวหนังของคนอย่างเร็ว ลึกประมาณ 400 ไมโครมิเตอร์ โดยจะดูดเลือดนานประมาณ 4-5 นาที ขณะเดียวกันก็จะปล่อยตัวอ่อนของพยาธิระยะ $L_3$ เข้าสู่คนตามรอยแผลที่มันกัด ตัวอ่อนพยาธิจะเคลื่อนไปยังชั้นใต้ผิวหนัง (ภาพที่ 3) หลังจากนั้นในช่วงระหว่าง 1-3 ปี จะเกิดก้อนเนื้อขึ้นภายใต้ผิวหนัง อาจมีขนาดเล็กสังเกตได้ยากหรือขนาดใหญ่เท่าผลมะนาว ภายในก้อนเนื้อจะมีพยาธิทั้งเพศผู้และเพศเมียอาศัยอยู่ พยาธิเพศผู้ที่เจริญเต็มที่จะยาว 2-5 เซนติเมตร และมีเส้นผ่าศูนย์กลางลำตัวประมาณ 0.02 มิลลิเมตร พยาธิตัวเมียยาว 50-70 เซนติเมตร และเส้นผ่าศูนย์กลางลำตัวประมาณ 0.04-0.06 มิลลิเมตร หลังจากผสมพันธุ์พยาธิตัวเมียจะผลิตตัวอ่อนไมโครฟิลาเรียที่มีขนาดประมาณ 330 ไมครอน เป็นจำนวนมาก พยาธิตัวเมียสามารถมีชีวิตอยู่ในคนได้นาน 10-15 ปี และสามารถผลิตลูกได้จำนวนห้าแสนถึงหนึ่งล้านตัวต่อปี ในคนที่มีอาการหนักอาจมีตัวอ่อนของพยาธิเป็นจำนวนห้าสิบถึงสองร้อยล้านตัว กระจายอยู่ตามใต้ผิวหนัง ตา และส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และบางทีมันอาจถูกขับออกทางปัสสาวะของคนป่วย ตัวอ่อนของพยาธิมีอายุ 1.5-3 ปี (Davies and Crosskey, 1991)

เมื่อริ้นดำตัวเมียกัดและดูดเลือดคนป่วยในบริเวณที่มีตัวอ่อนของพยาธิอยู่ ก็จะดูดตัวอ่อนของพยาธิจำนวนร้อย ๆ ตัวที่อยู่ใต้ผิวหนังไปด้วย ตัวอ่อนพยาธิจำนวนมากจะถูกย่อยในกระเพาะของริ้นดำและตายไป อาจมีตัวอ่อนพยาธิบางตัวเหลืออยู่และจะเคลื่อนผ่านผนังลำไส้ และเคลื่อนต่อไปยังช่องท้องและกล้ามเนื้อส่วนอก มันจะเจริญจากระยะ $L_1$ และ $L_2$ เป็น $L_3$ ที่มีความยาวประมาณ 600-680 ไมครอนในบริเวณกล้ามเนื้อส่วนอก จากนั้นพยาธิ $L_3$ จะเคลื่อนไปยังส่วนหัวและอวัยวะดูดแทงของริ้นดำ และถูกถ่ายทอดไปยังโฮสท์ใหม่ต่อไปเมื่อริ้นดำกัดคน ช่วงระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อนริ้นดำใช้เวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27-30°C แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่านี้จะใช้เวลา 10 หรือ 12 วัน

**การรักษา ควบคุม ป้องกันและกำจัด**

ขั้นแรกของการควบคุมโรคคือ การปฏิบัติโดยตรงต่อคนไข้ที่เป็นโรค dermal onchocerciasis โดยการผ่าตัดเอาก้อนเนื้อออกหรือโดยวิธีเคมีบำบัด (chemotherapy) ซึ่งเป็นวิธีที่ทำให้เกิดอาการข้างเคียงที่เป็นอันตราย นอกจากนี้ยังต้องมีการใช้ยา Diethylcarbamazine ฆ่าตัวอ่อนไมโครฟิลาเรีย แต่ไม่ฆ่าพยาธิตัวเต็มวัยร่วมด้วย ไมโครฟิลาเรียจะถูกฆ่าอย่างรวดเร็วจนกระทั่งคนไข้เกิดอาการตอบสนองต่อผลผลิตจากการสลายตัวของไมโครฟิลาเรียทางผิวหนัง ถ้าอาการรุนแรงมากอาจถึงแก่ชีวิตได้ สำหรับการกำจัดพยาธิตัวเต็มวัยสามารถใช้ยา Suramin sodium และ Melarsoprol ซึ่งเป็นสารอาร์ซีนิคที่เป็นพิษและอันตรายมากถ้าใช้ยาในปริมาณมาก ดังนั้นการใช้ยานี้จึงต้องอยู่ภายใต้ความดูแลและการแนะนำของแพทย์ที่จะต้องใช้ควบคู่กับยา corticosteroids และ antihistamines เพื่อลดอาการข้างเคียงที่จะเกิดขึ้น อย่างไรก็ตามการกำจัดตัวเต็มวัยของพยาธิทำได้ยาก เนื่องจากมันมีชีวิตในร่างกายคนยาวนานถึง 10-15 ปี เมื่อปี 1991 ได้มีการจัดตั้งโครงการ “Helen Keller International’s (HKI’s) Onchocerciasis Programs โครงการนี้ได้ร่วมมือกับกระทรวงสาธารณสุขของประเทศในแถบทวีปอาฟริกาและองค์กรอิสระอื่นๆ เพื่อพัฒนาและส่งเสริมกลยุทธ์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดโรค onchocerciasis โดยการแจกจ่ายยา ivermectin ที่ใช้รักษาอาการของโรค และยา mectizan ที่ใช้ป้องกันโรคไปสู่ชุมชน พร้อมทั้งได้เผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับการระวังโรคและการรักษาโรคแก่ชุมชนด้วย นอกจากนั้นประชากรในชุมชนจะต้องเรียนรู้วิธีป้องกันตัวเองไม่ให้ริ้นดำกัดโดยการทาตัวหรือทาเสื้อผ้าที่ใส่ด้วยยาฆ่าแมลง และควรใส่เสื้อที่ปกคลุมร่างกายมิดชิด และต้องรู้พฤติกรรมการกัดของริ้นดำว่าริ้นดำชอบกัดนอกบ้าน ดังนั้นการป้องกันการกัดของริ้นดำโดยการกางมุ้งจะไม่ได้ผล และต้องรู้ว่าริ้นดำชอบกัดส่วนบนหรือส่วนล่างของร่างกาย เช่น ริ้น

ดำชนิด *S. damnosum* ชอบกัดและดูดเลือดตามส่วนล่างของร่างกายใต้ระดับเอวลงไป ดังนั้นคนในท้องถิ่นนั้นต้องใส่กางเกงขายาว สวมถุงเท้าและรองเท้าประจำ แต่บางครั้งการแต่งตัวเช่นนี้เป็นอุปสรรคและไม่สะดวกในการทำงาน เนื่องจากอากาศในอาฟริกาค่อนข้างร้อนและในบางท้องที่เสื้อผ้ามีราคาแพง

ขั้นต่อไปคือ การควบคุมและกำจัดตัวอ่อน ในปี ค.ศ. 1975 องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้ร่วมกับธนาคารโลกให้การสนับสนุนจัดตั้งโครงการ “Onchocerciasis Control Programme” (OCP) เพื่อควบคุมโรคและหาวิธีป้องกันและกำจัดริ้นดำที่เป็นพาหะของโรคในอาฟริกาตะวันตก โดยใช้เงินงบประมาณจำนวน 250,000,000 ดอลลาร์ ในช่วงระยะเวลา 20 ปี การควบคุมและกำจัดตัวอ่อนทำได้โดยการใส่หรือพ่นสาร DDT และยาฆ่าแมลงชนิดอื่นลงในแม่น้ำลำธาร ในประเทศยูกันดาได้มีการใส่สาร DDT ลงไปในน้ำที่ไหลออกมาจากเขื่อนกั้นแม่น้ำไนล์ ทำให้สามารถควบคุมแหล่งเพาะพันธุ์ของริ้นดำชนิด *S. damnosum* ที่อยู่ใต้เขื่อนลงไปเป็นระยะทาง 80 กิโลเมตร ในเนื้อที่ 4,000 ตารางกิโลเมตร (Kettle,1990) ทำให้จำนวนริ้นดำลดลงอย่างมาก ซึ่งมีผลให้ประชาชนแถวนั้นสามารถทำมาหากินได้ตามปกติ นอกจากจะใช้ DDT แล้ว ยังมีการพ่นสารเคมีชนิด Hexochlorcyclohexane ลงในแม่น้ำ Zaire ที่ Kinshasa เป็นเวลาหลายปีเริ่มจากปี ค.ศ. 1948 และได้มีการทดลองพ่นสาร Deltamethrin ลงในแม่น้ำลำธารเช่นกัน แต่วิธีนี้ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากปริมาณสารเคมีเพียงเล็กน้อยสามารถฆ่าปลาและสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในน้ำได้ นอกจากนี้การใช้ DDT ยังมีผลทำลายแมลงชนิดอื่น ๆ ทั้งหมดในน้ำ ซึ่งทำให้มีผลต่อห่วงโซ่อาหารและสายใยอาหารของชุมชนในน้ำ ประกอบกับยังไม่สามารถควบคุมปริมาณของ DDT ที่ใส่ลงในแม่น้ำลำธารได้ จึงมีผลให้ริ้นดำเกิดการพัฒนาต่อต้าน DDT ขึ้น

แม้ว่าการใช้สารเคมีกำจัดตัวอ่อนของริ้นดำในแหล่งเพาะพันธุ์ ยังเป็นวิธีที่นิยมและใช้แพร่หลายมากที่สุด แต่จำเป็นต้องศึกษาชีววิทยาของริ้นดำชนิดที่เป็นพาหะนำโรคในบริเวณนั้น ก่อนทำการใส่หรือพ่นสารเคมีลงไปในแม่น้ำลำธาร เช่น ต้องศึกษาพฤติกรรมและชีพจักรเพื่อให้ทราบช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนถึงตัวดักแด้ จะได้ใช้สารเคมีในช่วงเวลาที่ถูกต้อง เช่น ช่วงการเจริญเติบโตจากไข่ไปจนถึงตัวดักแด้ของริ้นดำชนิด *S. damnosum* ในทวีปอาฟริกาใช้เวลาประมาณ 8 วัน ดังนั้นจำเป็นต้องพ่นสารเคมีลงในแหล่งน้ำเพาะพันธุ์ของริ้นดำชนิดนี้ทุกอาทิตย์ โดยพ่นจากเฮลิคอปเตอร์หรือเครื่องบินเล็ก (Kettle, 1990)

การกำจัดควบคุมตัวเต็มวัยของริ้นดำทำได้ค่อนข้างยากและไม่ค่อยได้ผล เนื่องจากแมลงริ้นดำสามารถบินไปได้ไกล อาจบินได้เป็นระยะทาง 12-18 กิโลเมตรจากแหล่งเพาะพันธุ์ ซึ่งริ้นดำชนิด *S. damnosum* ในอาฟริกาตะวันตกสามารถบินได้ 400-600 กิโลเมตรจากแหล่งเพาะพันธุ์เนื่องจากมีกระแสลมช่วย นอกจากนี้ริ้นดำยังมีพฤติกรรมชอบกัดและพักนอกบ้านในเวลากลางวัน ดังนั้นการพ่นสารเคมีเพื่อกำจัดตัวเต็มวัยในบ้านมักไม่ได้ผล

แม้ว่าตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของริ้นดำมีศัตรูตามธรรมชาติที่เป็นทั้งปรสิต (parasites) และตัวห้ำ (predators) จำนวนมาก (Crosskey, 1990) แต่ยังไม่มีศัตรูธรรมชาติชนิดใดถูกนำมาใช้ในการควบคุมและกำจัดริ้นดำทางชีววิธี (biocontrol) ได้ แม้จะมีการใช้หนอน (mermithid) ชนิด *Mesomermis flumenalis* เป็นตัวควบคุมริ้นดำในห้องทดลอง แต่ก็ล้มเหลวเมื่อได้ปล่อยหนอนชนิดนี้ในแหล่งเพาะพันธุ์ธรรมชาติ ในทำนองเดียวกันได้มีการทดลองทางชีววิธี เพื่อทดสอบศักยภาพของแบคทีเรีย เชื้อรา พยาธิตัวกลม โปรโตซัว และไวรัส ในการควบคุมริ้นดำ (Lacey and Undeen, 1988) แต่ไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากไม่เป็นที่ยอมรับทางสาธารณะ เพราะประชาชนในชุมชนไม่สามารถนำน้ำจากแม่น้ำลำธารมาอุปโภคและบริโภคได้

สารเคมีที่ใช้กำจัดตัวอ่อนริ้นดำ (Davies and Crosskey, 1991; Crosskey, 1993) ได้แก่ 1) Temphos (ABATE) เป็นสาร organophosphorus ที่เป็นพิษต่อกระเพาะอาหาร ใช้ครั้งแรกในโครงการ OCP ประเทศอาฟริกาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1975-1980 ระยะเริ่มแรกของโครงการควบคุมและกำจัดริ้นดำในประเทศกัวเตมาลาอเมริกากลางตั้งแต่ปี ค.ศ. 1979 ได้ใส่สาร temphos ในรูปของแข็งลงในแหล่งเพาะพันธุ์ริ้นดำทุก ๆ 2 สัปดาห์ ต่อมาได้จำกัดปริมาณและใช้ในรูปของเหลวเพื่อกำจัดริ้นดำชนิด *S. ochraceum* s.l. 2) Chlorophoxim เป็นสาร organophosphorus ในโครงการ OCP ได้เปลี่ยนการใช้สาร temphos มาเป็นสารนี้เนื่องจากริ้นดำบางชนิด เช่น *S. sanctipauti* และ *S. soubrense* มีการต่อต้านต่อสาร temphos แม้จะเพิ่มปริมาณเป็น 30 เท่า 3) Permethrin (Pyrethroid) และ orbosulfan (carbamate) สารเคมีทั้งสองได้ถูกนำมาใช้ในโครงการ OCP เช่นกัน แต่ใช้น้อยกว่าสาร temphos และ 4) *Bacillus thuringiensis* H-14

เป็นแบคทีเรียที่ผลิตผลึกโปรตีนออกมา และเมื่อตัวอ่อนริ้นดำกินเข้าไป ผลึกโปรตีนภายในเซลล์แบคทีเรียจะเป็นพิษทำลายผนังของท่อทางเดินอาหาร มีผลให้ตัวอ่อนริ้นดำตายในเวลาอันสั้น *Bacillus thuringiensis* H-14 เหมาะที่จะใช้กำจัดริ้นดำชนิดที่ต่อต้าน temephos และ chlorophoxim

**ความสำคัญของริ้นดำทางด้านเศรษฐกิจ**

แมลงริ้นดำมีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ โดยฝูงริ้นดำจะโจมตีสัตว์เลี้ยงในภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมาก ก่อนปี ค.ศ. 1897 มีรายงานว่าริ้นดำชนิด *Cnephia pecuarum* โจมตีสัตว์เลี้ยงพวกม้าและวัวบริเวณฝั่งแม่น้ำมิสซิสซิบปี้ ล้มตายเป็นจำนวนมาก ปัญหานี้ลดลงเมื่อมีการสร้างกำแพงป้องกันน้ำท่วม ในปี ค.ศ. 1931 ริ้นดำชนิดนี้ได้ฆ่าล่อตายเป็นจำนวนมากเช่นกัน เมื่อปี ค.ศ. 1930 ริ้นดำชนิด *S. columbaschensa* ซึ่งมีแหล่งเพาะพันธุ์อยู่บริเวณแม่น้ำดานูบ ได้ทำลายสัตว์เลี้ยงในประเทศยูโกสลาเวียและโรมาเนียเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้การโจมตีของริ้นดำมีผลทำให้วัวมีน้ำหนักลดลงและมีผลให้การผลิตนมลดลง ดังรายงานในปี ค.ศ. 1974 ว่าริ้นดำชนิด *S. pestilens* ลดผลผลิตของนมสูงถึง 15% ในรัฐควีนแลนด์ ประเทศออสเตรเลีย (Kettle, 1990) ในอเมริกา ริ้นดำชนิด *S. vittatum* ที่แพร่กระจายอย่างกว้างขวางทางตอนบนของประเทศได้ก่อความรำคาญให้สัตว์เลี้ยงอย่างมาก เนื่องจากริ้นดำจะคลานบนผิวหนังและไซบาดแผลของสัตว์ ในอเมริกาตอนล่างมีริ้นดำชนิด *S. meridionale* จำนวนมากในฤดูใบไม้ผลิ โจมตีเป็ดและไก่โดยกัดที่หงอนและเหนียง นอกจากจะก่อความรำคาญให้คนแถบตะวันตกของประเทศแคนาดาแล้วริ้นดำชนิด *S. arcticum* ยังโจมตีและทำความเสียหายแก่สัตว์เลี้ยงด้วย (Fredeen, 1969) ริ้นดำชนิด *S. venustum* มีการแพร่กระจายและก่อความรำคาญเป็นอย่างมากแก่ชาวประมงและผู้มาตั้งเต้นท์พักแรมทางตอนเหนือของอเมริกาและแคนาดา

**อนุกรมวิธานของแมลงริ้นดำโดยการศึกษารูปร่างลักษณะ (Morphotaxonomy)**

การวินิจฉัยแยกชนิดแมลงริ้นดำอย่างถูกต้องและแม่นยำมีความสำคัญมาก เพราะแมลงริ้นดำหลายชนิดเป็นพาหะนำโรคมาสู่คนและสัตว์ซึ่งจะต้องถูกควบคุมและกำจัด นอกจากนี้แมลงริ้นดำยังเป็นโฮสท์ที่สำคัญต่อการศึกษาการระบาดและแพร่กระจายของพยาธิที่เป็นอันตรายต่อคน คือ พยาธิ *Onchocerca volvulus* และ *Mansonella ozzardi* ปัจจุบันมีการศึกษาแยกชนิดของแมลงริ้นดำโดยการศึกษาลักษณะรูปร่างของตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัย เป็นจำนวนมาก ทำให้ทราบชนิดและจำนวนของริ้นดำสปีชีส์ใหม่ ๆ ที่เกิดขึ้น รวมทั้งการแพร่กระจายของมัน ดังนั้นชนิดของริ้นดำส่วนใหญ่ในตำราอนุกรมวิธานจึงเป็น “morphospecies” Crosskey (1981b) ได้รายงานริ้นดำจำนวน 1,270 ชนิดที่เป็น morphospecies ซึ่งประมาณ ½ มาจากเขต Holarctic ¼ มาจากเขต Neotropic และจำนวนที่เหลือมาจากเขต Afrotropic และเขต Oriento-Australasian ลักษณะรูปร่างทางกายวิภาคที่ใช้เป็นกุญแจ (key) แยกกลุ่มและชนิดของริ้นดำมากที่สุด คือ ลักษณะต่าง ๆ ของตัวเต็มวัย เช่น ลักษณะและสีของขา ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ในเพศผู้และเพศเมีย สำหรับลักษณะของตัวดักแด้มีจำนวนเส้นและรูปแบบของการแตกแขนงของ gill filaments รูปร่างและสีของปลอกหุ้มตัวดักแด้ (cocoon) สำหรับตัวอ่อนจะศึกษาลักษณะของ postgenal cleft และขากรรไกร (mandible) เป็นต้น กุญแจสำคัญในการวินิจฉัยแยกริ้นดำกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน ชนิด *S. damnosum* และชนิดอื่น ๆ ในภูมิภาคต่าง ๆ มีดังนี้ คือ ในทวีปอาฟริกามี Freeman and de Meillon (1953) สำหรับแยกชนิดของตัวดักแด้และตัวเต็มวัย Crosskey (1960) สำหรับแยกตัวอ่อน และ Lewis and Raybould (1974) สำหรับตัวเต็มวัยริ้นดำกลุ่ม *S. neavei* ในอเมริกากลาง ประเทศกัวเตมาลามี Dalmat (1955) ในอเมริกาใต้มี Shelley (1988) สำหรับแมลงริ้นดำในเขต Palaearctic แถบประเทศสแกนดิเนเวียมี Carlsson (1962) ในประเทศอังกฤษมี Davies (1968) ในอเมริกามี Peterson (1984) และ Merritt et al. (1978) ในประเทศออสเตรเลียมี Colbo (1976) และประเทศนิวซีแลนด์มี Crosskey (1990)

ในภูมิภาคเอเชียมีรายงานการศึกษาแยกชนิดของตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัยของริ้นดำโดยการศึกษาของ Crosskey (1973) หลังจากนั้นได้มีการศึกษารูปร่างลักษณะของริ้นดำในประเทศต่าง ๆ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการศึกษาของ Professor Hiroyuki Takaoka และคณะ แห่งภาควิชาควบคุมโรคติดต่อ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยแพทยศาสตร์ Oita ประเทศญี่ปุ่น ดังมีรายงานในประเทศต่อไปนี้ ประเทศไทย (Takaoka and Suzuki, 1984; Takaoka and Saito,

1996; Takaoka and Adler, 1997; Takaoka and Kuvangkadilok, 1999; Kuvangkadilok and Takaoka, 2000) มาเลเซีย (Takaoka and Davies, 1995, 1997) อินโดนีเซีย (Takaoka and Roberts, 1988; Takaoka and Hadi, 1991; Takaoka and Sigit, 1992, 1997; Takaoka and Davies, 1996) ไต้หวัน (Takaoka, 1979) ญี่ปุ่น (Takaoka 1972, 1977; Takaoka et al., 1999) ปาปัวนิวกินี (Takaoka, 1995) และเกาะโซโลมอน แปซิฟิคใต้ (Takaoka, 1994) จากการศึกษาของ Professor H. Takaoka ทำให้พบริ้นดำชนิดใหม่ในภูมิภาคเอเชียจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาจากประเทศอินเดีย (Datta, 1973, 1974a, 1974b; Puri, 1932a, 1932b, 1933a, 1933b, 1933c) และประเทศศรีลังกา (Davies and Györkös, 1987)

การศึกษาแยกชนิดของริ้นดำโดยการใช้หลักอนุกรมวิธานสัณฐานวิทยา เหมาะสำหรับการศึกษาในภาคสนาม เนื่องจากทำได้สะดวกและรวดเร็วกว่าการศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์ ซึ่งต้องศึกษาเฉพาะในห้องทดลองเท่านั้น อย่างไรก็ตาม ควรจะได้ทำการศึกษา morphometrics และ scanning electron microscopy (SEM) ร่วมด้วย จะทำให้ผลการวินิจฉัยสปีชีส์มีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

**การศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์ (Cytogenetics) และกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน**

ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของริ้นดำในวงศ์ Simuliidae มีลักษณะรูปร่างคล้ายคลึงกัน ชนิดของริ้นดำที่จำแนกออกเป็นกลุ่มย่อยในสกุลต่าง ๆ มีรูปร่างแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ประกอบกับกระบวนวิวัฒนาการการแตกแขนงเป็นสปีชีส์ใหม่ของริ้นดำ (speciation) มักไม่ควบคู่ไปกับการดิฟเฟเรนทิเอชันของลักษณะรูปร่าง จึงมีผลทำให้ซิบลิงสปีชีส์ (sibling species) ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนซึ่งมีความใกล้ชิดกันทางสายวิวัฒนาการ มีลักษณะรูปร่างคล้ายคลึงกันมากจนไม่สามารถแยกออกจากกันได้โดยการใช้หลักอนุกรมวิธานสัณฐานวิทยา (Procunier and Muro, 1994) ดังนั้นในการแยกชนิดของริ้นดำโดยเฉพาะซิบลิงสปีชีส์จะแยกโดยการศึกษารูปร่างลักษณะแต่เพียงอย่างเดียวไม่ได้ จำเป็นต้องใช้แนวการศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์ ร่วมกับด้านชีวเคมีโดยการศึกษาเอนไซม์หรือโปรตีนด้วยเทคนิคอิเล็คโตรโฟเรซิส (electrophoresis) เพื่อศึกษาหาความแตกต่างความถี่ของยีนหรืออัลลีลที่ควบคุมการสร้างโปรตีนหรือเอนไซม์ในริ้นดำชนิดต่าง ๆ ผลที่ได้จากการศึกษาอิเล็คโตรโฟเรซิสจะยืนยันการแบ่งแยกกลุ่มย่อยของประชากรที่อยู่ในสปีชีส์เดียวกันหรือความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ นอกจากนี้ควรจะได้ศึกษาด้านอณูพันธุศาสตร์ (molecular genetics) ประกอบ จึงจะช่วยให้การวินิจฉัยชนิดของริ้นดำมีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น และทำให้ทราบโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรริ้นดำด้วย

ปัจจุบันการศึกษาแยกซิบลิงสปีชีส์ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน โดยการใช้เทคนิคทางเซลล์พันธุศาสตร์ (cytotaxonomy) นิยมศึกษาโพลีทีนโครโมโซมที่มาจากต่อมน้ำลายของตัวอ่อนกันอย่างแพร่หลาย แม้จะมีรายงานการศึกษาโพลีทีนโครโมโซมจาก Malpighian tubules ของตัวดักแด้และตัวเต็มวัย (Bedo, 1976) โพลีทีนโครโมโซมที่มาจากต่อมน้ำลายของตัวอ่อนริ้นดำมีขนาดใหญ่และย้อมติดสีสวย จึงมีผู้นิยมศึกษาความแตกต่างของการเรียงตัวของแบนด์บนโพลีทีนโครโมโซมเพื่อแยกชนิดของริ้นดำโดยเฉพาะซิบลิงสปีชีส์ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน การศึกษาโพลีทีนโครโมโซมสามารถวินิจฉัยซิบลิงสปีชีส์ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนได้ (Rothfels, 1981) เนื่องจากเหตุผลดังนี้ คือ 1) โพลีทีนโครโมโซมมีแบบแผนการเรียงตัวของแบนด์ที่ละเอียดและจำเพาะ ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงโดยปรากฏการณ์การรวมกัน (convergence phenomena) 2) ซิบลิงสปีชีส์แตกต่างกันโดยการเกิดอินเวอร์ชัน เกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วน และการจัดเรียงแบบแผนการเรียงตัวของแบนด์ใหม่บนโพลีทีนโครโมโซมหนึ่งแท่งหรือมากกว่าหนึ่งแท่ง ซึ่งทราบได้จากการเปรียบเทียบกับแผนที่มาตรฐานของโพลีทีนโครโมโซม 3) หลักการที่แสดงให้เห็นว่าซิบลิงสปีชีส์มีโครโมโซมแตกต่างกัน มีดังนี้ (a) มีการเรียงของแบนด์ที่จำเพาะในแต่ละซิบลิงสปีชีส์ เช่น มีอินเวอร์ชันชนิดใดชนิดหนึ่งที่จำเพาะในแต่ละซิบลิงสปีชีส์ (b) มีระบบโครโมโซมเพศต่างกัน ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของสปีชีส์ ในสปีชีส์ส่วนมากโครโมโซม X และ Y มีการเรียงลักษณะของแบนด์ต่างกัน ซึ่งสามารถวินิจฉัยจากโพลีทีนโครโมโซมได้ (c) มี inversion polymorphisms ต่างกัน อาจเกิดในรูปของเฮเทโรไซกัส ซิบลิงสปีชีส์อาจมีโพลิมอร์ฟิซึมร่วมกันแต่มีความถี่ต่างกัน นอกจากนี้การเกิด B โครโมโซม โพลิมอร์ฟิซึมของแบนด์ และลักษณะการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในตัวผู้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์เช่นกัน 4)

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์มีประโยชน์ต่อการศึกษา biological species ของซิบลิงสปีชีส์ในสถานการณ์ของการเกิดการแตกแขนงเป็นสปีชีส์ใหม่แบบซิมแพทริก (sympatric speciation) ที่ไม่ปรากฏลูกผสมให้เห็นโดยตรง และ 5) การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์สามารถทำให้เกิดการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสปีชีส์ต่าง ๆ ได้โดยการใช้หลักว่าสปีชีส์ต่าง ๆ มีลักษณะของแบนด์บนโพลีทีนโครโมโซมเหมือนกัน แต่ต่อมามีการแตกแขนงออกไป โดยมีการจัดเรียงตัวของแบนด์ใหม่แบบเป็นขั้นตอน

จากหลักเกณฑ์เหล่านี้ได้มีผู้ศึกษาโพลีทีนโครโมโซมและรายงานการพบซิบลิงสปีชีส์ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนที่เป็นพาหะของโรค onchocerciasis จำนวนมากในทวีปอาฟริกา อเมริกากลาง และอเมริกาใต้ เช่น กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. damnosum* ในทวีปอาฟริกา ที่มีผู้รายงานการพบซิบลิงสปีชีส์เพิ่มขึ้นตามลำดับจาก 25 cytotypes ในอดีต (Dunbar, 1976; Dunbar and Vajime, 1971, 1972; Vajime and Dunbar, 1975) เพิ่มมาเป็นอย่างน้อยที่สุด 40 cytotypes ในปัจจุบัน (เช่น Vajime, 1989; Boakye, 1993; Maegga and Cupp, 1993, 1994; Mafuyai et al., 1996; Vajime et al., 2000) กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. ochraceum* ในเม็กซิโกมี 3 cytotypes คือ cytotype A, B และ C (Millest, 1992; Hirai et al., 1994) กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. guianense* ในบราซิลมี 4 cytotypes คือ A, B, C และ D (Charalambous et al., 1996) กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. exiguum* ในอีกัวดอร์มี 4 cytotypes (Charalambous et al., 1993a, 1993b) กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. sirbanum* ในอาฟริกาตะวันตกมี 2 ฟอร์ม (Fiasorgor and Cheke, 1992) กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. metallicum* เพิ่มอีก 1 cytotype (cytotype L) (Arteaga and Munoz, 1999) ซึ่งเดิมมีอยู่แล้ว 11 cytotypes (cytotype A-K) (Conn, 1990) นอกจากนี้ยังมีกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนในทวีปอเมริกาเหนือและออสเตรเลีย คือ ในอเมริกาเหนือและแคนาดามีกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนหลายกลุ่ม เช่น กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. pictipes* ประกอบด้วย 3 ซิบลิงสปีชีส์ คือ *S. longistylatum*, *S. pictipes* A และ *S. pictipes* B สปีชีส์เหล่านี้มีโครโมโซม Y ต่างกัน (Bedo, 1975) กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. vittatum* มี species IIIL-1 และ IS-7 ซึ่งอยู่ในสภาพซิมแพทริก แยกออกจากกันโดยอินเวอร์ชันบนโครโมโซม Y และอินเวอร์ชันบนโครโมโซม X (Rothfels and Featherston, 1981) กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. venustum*/ *S. verecundum* มี 11 สปีชีส์ (Rothfels et al., 1978; Rothfels, 1979) และกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. tuberosum* มี 4 ฟอร์มที่มีแบบแผนการเรียงตัวของแบนด์บนโพลีทีนโครโมโซมเพศแตกต่างกัน (Landau, 1962) ในประเทศออสเตรเลียมีกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. ornatipes* (species A และ B) และ *S. neornatipes* (species 1 และ 2) (Bedo, 1977)

นอกจากนี้ยังมีผู้รายงานการศึกษาโพลิมอร์ฟิซึมของโพลีทีนโครโมโซม (Rothfels and Freeman, 1977; Bedo, 1979) และการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างริ้นดำสปีชีส์ต่าง ๆ (Bedo, 1977; Rothfels, 1979) รวมทั้งการศึกษาความแตกต่างของปริมาณและการกระจายของคอนสทิทิวทีฟ เฮเทโรโครมาทิน (constitutive heterochromatin) บนโพลีทีนโครโมโซมโดยการย้อมโครโมโซมแบบแถบสีซี (C-band) ด้วยสีกิมซา (Giemsa) เพื่อศึกษาความแตกต่างระหว่าง สปีชีส์และการแยกสปีชีส์ของริ้นดำ (Bedo, 1975)

กระบวนการดิฟเฟเรนทิเอชันทางพันธุกรรม อาจเกิดที่ระดับต่างกันของจีโนมในช่วงการเปลี่ยนแปลงทางวิวัฒนาการ ในระดับโมเลกุลมีการแทนที่ของคู่เบสซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงปริมาณดีเอ็นเอที่มีลักษณะเฉพาะ (Baimai, 1998) อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมสามารถตรวจได้ที่ระดับโครโมโซม โดยมีการจัดเรียงลำดับของยีนใหม่บนโครโมโซมและมีการดิฟเฟเรนทิเอชันของเฮเทโรโครมาทิน เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณของดีเอ็นเอที่มีการเรียงลำดับเบสซ้ำกัน (repetitive DNA หรือ satellite DNA) เป็นช่วงใหญ่ตลอดจีโนม ดังนั้นบริเวณที่เป็นเฮเทโรโครมาทินจะมีปริมาณของดีเอ็นเอที่มีเบสเรียงซ้ำกันมากในจีโนม (Britten and Kohne, 1968; Peacock et al., 1977) ดีเอ็นเอที่มีเบสเรียงซ้ำกันเป็นส่วนของดีเอ็นเอที่ไม่สื่อความหมายในการแปรรหัสพันธุกรรม (noncoding DNA) และเป็นส่วนที่แปรผันเร็วกว่ายูโครมาทินที่มีการเรียงลำดับของเบสจำเพาะ (unique DNA sequence) (Macgregor et al., 1973) เชื่อว่าเฮเทโรโครมาทินมีบทบาทสำคัญในการวิวัฒนาการของโครโมโซม (Yosida and Segai, 1975; Lentzios et al., 1980) ได้มีรายงานจำนวนมาก เกี่ยวกับความแปรผันของเฮเทโรโครมาทินภายในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันและต่างชนิดกัน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการวิวัฒนาการของคารีโอไทป์ในพืชและสัตว์ (Weimarck, 1975; John, 1981; Baverstock et al., 1982) ความแตกต่างของคอนสทิทิวทีฟเฮเทโรโครมาทินบนไมโททิกโครโมโซม ยังเกี่ยวข้องกับกระบวน

การแตกแขนงเป็นสปีชีส์ใหม่ (Motara and Rai, 1978; Bhatnagar et al., 1980) โดยเฉพาะการเป็นบรรทัดฐานในการแยกคริบทิกสปีชีส์ หรือไอโซมอร์ฟิคสปีชีส์ (cryptic or isomorphic species) ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนของแมลงที่มีสายสัมพันธ์ใกล้ชิดกันทางสายวิวัฒนาการ ซึ่งศึกษากันมากในยุงก้นปล่องสกุล *Anopheles* (Subbarao et al., 1983; Baimai, 1988) และแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* (Baimai et al., 1996; Baimai and Trinachartvanit, 1999) นอกจากนี้ เฮเทโรโครมาทิกแบนด์หรือเฮเทโรโครมาทิกบล็อกยังมีความสัมพันธ์กับเพศ ทำให้สามารถวินิจฉัยโครโมโซมเพศในยุงสกุล *Aedes* ได้ (Newton et al., 1974) และมีความสัมพันธ์กับการดิฟเฟเรนทิเอชันของส่วนของโครโมโซม X และ Y ในแมลงริ้นดำหลายชนิด เช่น *S. ornatipes* (Bedo, 1975), *S. ochraceum* (Hirai et al., 1994), *S. metallicum* (Conn et al., 1989), *Cnephia dacotensis* (Procunier, 1975) และ *Prosimulium mixtum* (Rothfels and Freeman, 1977)

โดยเทคนิคการย้อมแถบสีซีด้วยสีกิมซาแสดงให้เห็นว่าเฮเทโรโครมาทินอยู่บริเวณเซนโทรเมียร์ (centromeric C-band) เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบเฮเทโรโครมาทินกระจายตามแขนโครโมโซม (interstitial C-band) และปลายโครโมโซม (telomeric C-band) ได้มีรายงานการศึกษาความแตกต่างทางคุณภาพ จำนวน ขนาด และการกระจายของแถบสีซีในริ้นดำชนิด *S. ornatipes* และ *S. melatum* (Bedo, 1975) ดังนั้นการย้อมแถบสีซีมีประโยชน์ในการศึกษาความแตกต่างระหว่างสปีชีส์และภายในสปีชีส์เดียวกัน โดยเปรียบเทียบจำนวน ขนาด และการกระจายของคอนสทิทิวทีฟเฮเทโรโครมาทิน ซึ่งนำไปสู่การศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสปีชีส์เหล่านี้ นอกจากนี้การย้อมแถบสีซียังทำให้สามารถวินิจฉัยตำแหน่งเซนโทรเมียร์บนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิต ซึ่งมีประโยชน์ในการศึกษาคารีโอไทป์เพื่อวินิจฉัยสปีชีส์ของสิ่งมีชีวิต

**พารามิเตอร์ทางเคมีและฟิสิกส์ (Hydro-Chemical และ Physical Parameters) ของแหล่งน้ำเพาะพันธุ์**

ในการศึกษาความสัมพันธ์ของการกระจายของสปีชีส์ (ซึ่งแยกโดยลักษณะรูปร่างภายนอก) กับ limnological factors (ปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ที่เกี่ยวกับน้ำ เช่น ปริมาณแร่ธาตุ ปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ ความเร็วของน้ำ และความเป็นกรด-ด่าง) ในหลายประเทศ เช่น อาฟริกาใต้ (Chutter, 1968) อเมริกาเหนือ (Merritt, et al., 1978) สแกนดิเนเวีย (Carlsson, et al., 1977) พบว่าการกระจายของสปีชีส์ไม่มีความสัมพันธ์กับ limnological factors แต่อาหารหรือคุณภาพของอาหารเป็นปัจจัยสำคัญในการกระจาย (Ulfstrand 1967; Carlsson et al., 1977) แต่ Millest et al. (1999) ได้รายงานว่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และความสูงเหนือระดับน้ำทะเล มีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของสมาชิกในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. metallicum* ในเม็กซิโก Ross และ Merritt (1978) พบว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อเวลาการฟักเป็นตัวอ่อนและอัตราการเจริญเติบโตของตัวอ่อน และเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดในการควบคุมขนาดของประชากร แต่อุณหภูมิจะไม่เกี่ยวข้องกับการกระจายของริ้นดำ นอกจากนี้ได้มีการรายงานความสัมพันธ์ระหว่างนิเวศวิทยากับกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. damnosum* ในอาฟริกาตะวันตกและตะวันออก ซึ่งมี 13 cytotypes โดยริ้นดำกลุ่มนี้ถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ตามสภาพความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (Grunewald, 1976) ตัวอ่อนของซิบลิงสปีชีส์ของกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. damnosum* s.l. ในอาฟริกาตะวันตก จะเจริญเติบโตในน้ำที่มีอุณหภูมิแตกต่างกัน เช่น ตัวอ่อนของ *S. damnosum* และ *S. sirbanum* เจริญในน้ำที่มีอุณหภูมิระหว่าง 24-33°C โดยมีค่าเฉลี่ย 27°C ในทำนองเดียวกัน S. *venustum*/*verecundum* ในอเมริกาเหนือ (11 ซิบลิงสปีชีส์) ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามสภาพความเป็นกรด-ด่างของน้ำและปริมาณสัดส่วนของเกลือในน้ำ (Gordon and Cupp, 1980) ในอเมริกาเหนือทางตอนใต้ของแคลิฟอร์เนีย Mohsen และ Mulla (1982) ได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างนิเวศวิทยากับความหนาแน่นของตัวอ่อนและตัวดักแด้ในริ้นดำหลายสปีชีส์ดังนี้ ความหนาแน่นของตัวอ่อนและตัวดักแด้ของริ้นดำชนิด *S. argus* มีความสัมพันธ์กับช่วงความยาวของวัน อุณหภูมิน้ำและอากาศ ความเร็วของลม และความเป็นกรด-ด่างของน้ำ สำหรับริ้นดำชนิด *S. piperi* มีความสัมพันธ์กับความลึกและความเร็วของน้ำ อุณหภูมิ อากาศ และการตกตะกอนของน้ำ แต่ในริ้นดำชนิด *S. canadense* มีเฉพาะความเร็วของน้ำเท่านั้นที่เกี่ยวข้องกับความหนาแน่นของตัวอ่อนและตัวดักแด้ ความเร็วของน้ำไม่ได้มีผลเฉพาะกิจกรรมการกินอาหารของตัวอ่อนเท่านั้น ยังมีผลในการป้องกันไม่ให้เกิดการสะสมน้ำที่ไม่มีประโยชน์บริเวณรอบๆ ตัวอ่อน ซึ่งเป็นผล

เนื่องมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (Ruttner, 1926) ความเร็วของน้ำในแหล่งอาศัยของตัวอ่อนของกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *S. damnosum* มีความแตกต่างกันโดยมีค่าระหว่าง 0.40-2.40 เมตร/วินาที (Carlsson, 1968) สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความหลากหลายชนิดของริ้นดำ การแพร่กระจาย ความหนาแน่น และนิเวศวิทยา ในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศ ศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างการเรียงตัวของแบนด์บนโพลีทีนโครโมโซมเพื่อเป็นการแยกชนิดของริ้นดำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณและตำแหน่งของคอนสทิทิวทีฟเฮเทโรโครมาทินบนโพลีทีนโครโมโซมของตัวอ่อนริ้นดำ เพื่อบ่งชี้ความแตกต่างระหว่างสปีชีส์และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างสปีชีส์

## วิธีการ

ทำการเก็บตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัยของริ้นดำ ในแหล่งน้ำไหลธรรมชาติ จำนวน 91 แห่งในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย แล้วศึกษาความหลากลายทางพันธุกรรมและแยกชนิดของประชากรริ้นดำ โดยศึกษารูปร่างลักษณะสัณฐานวิทยาและเซลล์พันธุศาสตร์ในห้องปฏิบัติการของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับตัวดักแด้ได้ทำการเลี้ยงในหลอดทดลองเพื่อให้เจริญเป็นตัวเต็มวัยเพื่อใช้วินิจฉัยชนิดของริ้นดำ นอกจากนี้ ได้ศึกษานิเวศวิทยาของแหล่งน้ำเพาะพันธุ์ริ้นดำ โดยวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น แคลเซียม คาร์บอเนต แอมโมเนีย ไนเตรต ไนไตรท์ และฟอสเฟต และศึกษาความเป็นกรด-ด่างของน้ำ อุณหภูมิน้ำและอากาศ ระดับความสูงของน้ำเหนือระดับน้ำทะเล ความเร็วของกระแสน้ำ และปริมาณออกซิเจนในน้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม PATN Package (Belbin, 1995) และโปรแกรม SPSS

### *การจับริ้นดำ*

วิธีการจับตัวอ่อนจับโดยใช้ปากคีบเล็กคีบตัวอ่อนที่เกาะตามก้อนหิน เศษวัตถุต่าง ๆ ต้นหญ้าและใบพืชที่ลอยในน้ำไหล ทำการแบ่งตัวอ่อนริ้นดำที่จับได้ออกเป็น 2 ส่วน โดยดองตัวอ่อนส่วนหนึ่งไว้ใน Carnoy's fixative (3 ส่วน absolute ethanol: 1 ส่วน glacial acetic acid) สำหรับศึกษาโพลีทีนโครโมโซม ตัวอ่อนส่วนที่สองดองใน 80% ethanol เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยา การเก็บรักษาต่อมน้ำลายและโพลีทีนโครโมโซมให้อยู่ในสภาพดีต้องเปลี่ยนน้ำยา fixative หลังจากใส่ตัวอ่อน 2 นาที และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ เก็บหลอดที่ใส่ตัวอ่อนในน้ำแข็งเป็นการชั่วคราว หลังจากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ –20°C

### *การศึกษาลักษณะรูปร่างของตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัย*

ในการศึกษาแยกชนิดของตัวอ่อนและตัวดักแด้ ทำโดยการศึกษาเปรียบเทียบกับรูปร่างลักษณะของตัวอ่อนและตัวดักแด้ที่ได้มีรายงานการศึกษาในประเทศต่าง ๆ ในทวีปเอเชีย ดังนี้คือ ประเทศไทย (Takaoka and Suzuki, 1984; Takaoka and Saito, 1996; Takaoka and Alder, 1997), มาเลเซีย (Takaoka and Davies, 1995), อินเดีย (Datta, 1973, 1974a, 1974b, Puri 1932a, 1932b, 1933a, 1933b, 1933c), อินโดนีเซีย (Takaoka and Robert, 1988; Takaoka and Hadi, 1991; Takaoka and Sigit, 1992; Takaoka and Davies, 1996), ไต้หวัน (Takaoka, 1979) และญี่ปุ่น (Takaoka 1972, 1977) นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้รับความช่วยเหลือจากศาสตราจารย์ Hiroyuki Takaoka ภาควิชาควบคุมโรคติดต่อ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยแพทย์ Oita ประเทศญี่ปุ่น ในการวินิจฉัยและยืนยันตัวอย่างตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัย ของริ้นดำชนิดใหม่และที่ทราบชนิดแล้ว

### *วิธีการเตรียมโพลีทีนโครโมโซมเพื่อศึกษาแบบแผนการเรียงตัวของแบนด์*

โพลีทีนโครโมโซมของริ้นดำเตรียมได้จากต่อมน้ำลายของตัวอ่อนที่อยู่ในช่วงสุดท้ายของการเจริญเติบโต (สังเกตจาก gill spot สีดำ ตรงบริเวณด้านข้างของปล้องอก) ทำการเขี่ยต่อมน้ำลาย (silk gland) ของตัวอ่อนที่ดองในน้ำยา fixative ภายใต้กล้องผ่าตัด หลังจากนั้นย้อมสีโพลีทีนโครโมโซมด้วยสี 1.6% lacto propionic orcein ตามวิธีของ Porter และ Martin (1977) ศึกษาแบบแผนการเรียงตัวของแบนด์บนโพลีทีนโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ่ายรูปโครโมโซม ถ้ามีอินเวอร์ชันได้ศึกษาจุดแยกของอินเวอร์ชันด้วย

### *วิธีการเตรียมโพลีทีนโครโมโซมและวิธีย้อมแถบสีซี*

โพลีทีนโครโมโซมของริ้นดำเตรียมได้จากต่อมน้ำลายของตัวอ่อน เขี่ยต่อมน้ำลายของตัวอ่อนที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตขั้นสุดท้าย (penultimate instar larvae) ในน้ำยา fixative แล้วแช่ใน 60% acetic acid เป็นเวลา 1 นาที ใช้หัวแม่มือกดแผ่น cover glass (ซึ่งเคลือบด้วยน้ำยาซิลิโคนแล้ว) วางทับต่อมน้ำลายบนสไลด์เพื่อให้เซลล์แตกและโครโมโซมแบนเรียบ ยาขอบ cover glass ด้วยน้ำยาทาเล็บ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C หลังจากนั้นนำมาย้อมแถบสีซี ซึ่งโครโมโซมที่นำมาย้อมไม่ควรเกิน 3 วันนับจากวันที่เตรียม วิธีย้อมแถบสีซีได้ดัดแปลงจากวิธีของ Hadi et al. (1996)

### *วิธีแยกเพศริ้นดำ*

หลังจากเขี่ยต่อมน้ำลายออกจากตัวอ่อนแล้ว นำตัวอ่อนนั้นมาแยกเพศผู้หรือเพศเมีย เพื่อประโยชน์ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง sex-linked inversions กับเพศ เนื่องจากอวัยวะเพศของตัวอ่อนริ้นดำอยู่ภายในไขมัน ดังนั้น จึงยากที่จะวินิจฉัยเพศของตัวอ่อนที่ไม่ได้ย้อมสี วิธีการแยกเพศจะทำตามวิธีของ Bedo (1977) จากนั้นตรวจลักษณะรูปร่างอวัยวะเพศ ซึ่งอยู่ด้านบนของปล้องท้องที่ 6 ภายใต้กล้องผ่าตัด อวัยวะเพศจะฝังอยู่ในไขมัน โดยอัณฑะของตัวผู้จะมีลักษณะกลม เล็ก และรังไข่ของตัวเมียมีลักษณะยาว รี

### *การทำแผนภาพโครโมโซม*

นำภาพโพลีทีนโครโมโซมที่เห็นแบนด์ชัด มาตัดต่อเพื่อทำแผนภาพโครโมโซมของริ้นดำ วิธีการทำแผนภาพและการจัดเรียงโครโมโซมจะทำตามวิธีของ Bedo (1977) ดังนี้ จัดเรียงโครโมโซมตามลำดับความยาวจากแท่งยาวไปหาแท่งสั้น และเรียกเป็นโครโมโซม I, II และ III ตามลำดับ สำหรับโครโมโซมแขนยาวจะใช้สัญลักษณ์เป็น L และ S สำหรับโครโมโซมแขนสั้น เช่น IS หรือ IIIL ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมจะแยกออกเป็น 100 ส่วน โดยแต่ละส่วนจะเรียงจากปลายแขนสั้นของโครโมโซมแท่งที่ 1 (IS) เรียงผ่านเซนโทรเมียร์ไปยังโครโมโซมแขนยาว และเรียงต่อไปยังโครโมโซมแท่งที่ 2 และ 3 จนถึงปลายแขนยาวของโครโมโซมแท่งที่ 3 (IIIL) จากนั้นแบ่งโครโมโซมแต่ละส่วนออกเป็น 2 ส่วนย่อย (A และ B) หรือ 3 ส่วนย่อย (A, B และ C) แบนด์ของโครโมโซมภายในส่วนย่อย A, B และ C สามารถแบ่งได้โดยเขียนเบอร์ของโครโมโซมส่วนใหญ่ พร้อมทั้งอักษรของส่วนย่อยและตำแหน่งของแบนด์ภายในส่วนย่อย เช่น 45B3 หมายถึงแบนด์ที่ 3 จากจุดเริ่มต้นของส่วนย่อย B ในโครโมโซมส่วนที่ 45

## ผลการวิจัย

### *ชนิด จำนวน และการแพร่กระจายของตัวอ่อนริ้นดำ*

ในการศึกษาความหลากหลายของชนิดของตัวอ่อนริ้นดำที่เก็บมาจากแหล่งน้ำไหลธรรมชาติในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย โดยใช้หลักอนุกรมวิธานรูปร่างลักษณะสัณฐานวิทยาของตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัย พบริ้นดำจำนวน 42 สปีชีส์ เป็นสปีชีส์ที่มีรายงานการพบและตั้งชื่อวิทยาศาสตร์แล้วจำนวน 30 สปีชีส์ เป็นสปีชีส์ที่ไม่ได้ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์และอาจเป็นสปีชีส์ที่มีรายงานแล้วแต่มีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิมจำนวน 6 สปีชีส์ คือ *Simulium* sp. H, J, L, e, g และ k เป็นสปีชีส์ใหม่ที่ยังไม่ได้ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ 1 สปีชีส์ คือ *S.* sp. G และเป็นสปีชีส์ใหม่ที่ได้ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์แล้วจำนวน 5 สปีชีส์ คือ *S. chaliowae*, *S. chainarongi*, *S. triglobus*, *S. baimaii* (Takaoka and Kuvangkadilok, 1999) และ *S. chumpornense* (Kuvangkadilok and Takaoka, 2000) ตัวอ่อนริ้นดำเหล่านี้ถูกจำแนกออกเป็นกลุ่มย่อย ๆ (species-group) ใน 6 สกุลย่อยที่มีรายงานแล้ว และอีก 1 สกุลย่อยที่ยังไม่มีรายงานของสกุล *Simulium* (ตารางที่ 1) ซึ่งมีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันหรือคล้ายคลึงกัน และอาศัยในแหล่งน้ำที่มีระดับความสูงเหนือระดับน้ำทะเลและสิ่งแวดล้อมต่างกัน การแพร่กระจายและความหลากหลายของตัวอ่อนริ้นดำในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศมีดังนี้

ตารางที่ 1. อนุกรมวิธานตามหลักรูปร่างสัณฐานวิทยาของตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัย ของริ้นดำในประเทศไทย

**Genus *Simulium* Latreille**

I Subgenus *Gomphostilbia* Enderlein

*batoense*-group

1. *Simulium* (*G.*) *duolongum* Takaoka and Davies, 1995
2. *Simulium* (*G.*) *decuplum* Takaoka and Davies, 1995
3. *Simulium* (*G.*) *parahiyangum* Takaoka and Sigit, 1992
4. *Simulium* (*G.*) *siamense* Takaoka and Suzuki, 1984
5. *Simulium* (*G.*) *angulistylum* Takaoka and Davies, 1995
6. *Simulium* (*G.*) *dentistylum* Takaoka and Davies, 1995
7. *Simulium* (*G.*) *gombakense* Takaoka and Davies, 1995

*ceylonicum*-goup

8. *Simulium* (*G.*) *sheilae* Takaoka and Davies, 1995
9. *Simulium* (*G.*) *asakoae* Takaoka and Davies, 1995
10. *Simulium* (*G.*) *inthanonense* Takaoka and Suzuki, 1984
11. *Simulium* (*G.*) sp. g

*varicorne*-group

12. *Simulium* (*G.*) *chumpornense* Kuvangkadilok and Takaoka, 2000

II Subgenus *Himalayum* Lewis

13. *Simulium* (*H.*) *nigrogilvum* Summer, 1911

III Subgenus *Nevermannia* Enderlein

*feuerborni*-group

14. *Simulium* (*N.*) *feuerborni* Kuvangkadilok and Takaoka, 2000

*ruficorne*-group

15. *Simulium* (*N.*) *aureohirtum* Brunetti, 1911

*vernum*-group

16. *Simulium* (*N.*) *caudisclerum* Kuvangkadilok and Takaoka, 2000

IV Subgenus Simulium Latreille

*griseifrons*-group

17. *Simulium* (*S.*) *grossifilum* Takaoka and Davies, 1995

*multistriatum*-group

18. *Simulium* (*S.*) *fenestratum* Edward, 1934
19. *Simulium* (*S.*) *chaliowae* Takaoka and Kuvangkidilok, 1999
20. *Simulium* (*S.*) *chainarongi* Takaoka and Kuvangkidilok, 1999
21. *Simulium* (*S.*) *triglobus* Takaoka and Kuvangkidilok, 1999
22. *Simulium* (*S.*) *malayense* Takaoka and Davies, 1995

*nobile*-group

23. *Simulium* (*S.*) *nodosum* Puri, 1933
24. *Simulium* (*S.*) *nobile* de Meijere

*striatum*-group

25. *Simulium* (*S.*) *chiangmaiense* Takaoka and Suzuki, 1984
26. *Simulium* (*S.*) *nakhonense* Takaoka and Suzuki, 1984
27. *Simulium* (*S.*) *quinquestriatum* Takaoka and Suzuki, 1984

*tuberosum*-group

28. *Simulium* (*S.*) *rufibasis* Takaoka and Suzuki, 1984
29. *Simulium* (*S.*) *tani* Takaoka and Suzuki, 1984
30. *Simulium* (*S.*) *brevipar* Takaoka and Davies, 1995

*variegatum*-group

31. *Simulium* (*S.*) *chamlongi* Takaoka and Suzuki, 1984

*malyschevi*-group

32. *Simulium* (*S.*) *siripoomense* Takaoka and Saito, 1996

ungrouped species

33. *Simulium* (*S.*) *rudnicki* Takaoka and Davies, 1995
34. *Simulium* (*S.*) *yongi* Takaoka and Davies, 1997
35. *Simulium* (*S.*) sp. H
36. *Simulium* (*S.*) sp. J
37. *Simulium* (*S.*) sp. L
38. *Simulium* (*S.*) sp. e

V Subgenus *Montisimulium*

39. *Simulium* (*M.*) sp. G
40. *Simulium* (*M.*) sp. k

VI Subgenus *Daviesellum*

41. *Simulium* (*D.*) *pahangense* Takaoka and Davies, 1995

Unknown subgenus

42. *Simulium baimaii* Takaoka and Kuvangkadilok, 1999

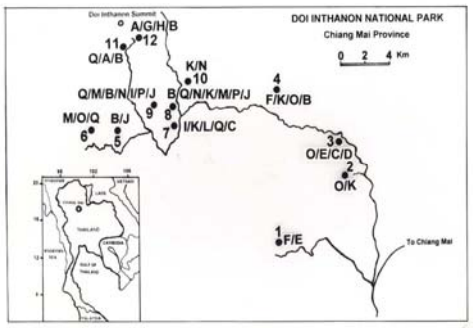
*ภาคเหนือ:* จากการศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของตัวอ่อนริ้นดำในเขตภาคเหนือ พบว่ามีจำนวนทั้งหมด 27 สปีชีส์ ที่อาศัยในแหล่งน้ำไหลจำนวน 33 แห่ง ในบริเวณ 10 จังหวัด ดังนี้ จังหวัดเชียงใหม่ 16 แห่ง คือ อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ (12 แห่ง) และอุทยานแห่งชาติสุเทพ-ปุย (4 แห่ง) เชียงราย (4 แห่ง) ลำปาง (1 แห่ง) อุตรดิตถ์ (2 แห่ง) เพชรบูรณ์ (3 แห่ง) น่าน (1 แห่ง) แพร่ (2 แห่ง) กำแพงเพชร (1แห่ง) ตาก (2 แห่ง) และสุโขทัย (1 แห่ง) จากจำนวนริ้นดำจำนวน 27 สปีชีส์นี้ เป็นสปีชีส์ใหม่ที่ยังไม่มีรายงานการพบจำนวน 3 สปีชีส์ คือ *S.* sp. G, *S. chaliowae* และ *S. triglobus* บริเวณที่มีการแพร่กระจายของตัวอ่อนมากที่สุดในเขตภาคเหนือ คือ อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ ซึ่งพบริ้นดำจำนวน 17 สปีชีส์ ริ้นดำเหล่านี้แพร่กระจายในแหล่งน้ำไหล 12 แห่ง จากบริเวณเชิงดอยถึงยอดดอยที่มีระดับความสูงตั้งแต่ 400–2,400 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล (ภาพที่ 4) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างการแพร่กระจายและความหนาแน่นของตัวอ่อนริ้นดำกับระดับความสูงของดอย เนื่องจากพบริ้นดำต่างสปีชีส์ในแหล่งน้ำไหลที่มีระดับความสูงแตกต่างกัน เช่น *S. caudisclerum*, *S.* sp. G และ *S.* sp. H มีแหล่งที่อยู่อาศัยเฉพาะบริเวณที่มีความสูงประมาณ 2,400 เมตร ในทางตรงกันข้ามจะพบ *S. nakhonense* และ *S. rudnicki* เฉพาะบริเวณที่มีความสูงประมาณ 400–700 เมตรเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างการแพร่กระจายและความหนาแน่นของตัวอ่อนริ้นดำกับปัจจัยบางอย่างของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิของน้ำและความเร็วของกระแสน้ำ (Kuvangkadilok et al., 1999a) บริเวณภาคเหนือมีการแพร่กระจายและความหลากหลายของชนิดของตัวอ่อนริ้นดำค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตาม ตัวอ่อนริ้นดำที่พบเฉพาะในเขตภาคเหนือมีเพียง 6 สปีชีส์ คือ *S. chiangmaiense*, *S. nigrogilvum* และ *S. brevipar* (ภาพที่ 5) ส่วนอีก 3 สปีชีส์ เป็นสปีชีส์ใหม่ที่ยังไม่มีรายงานการพบมาก่อน คือ *S.* sp. G ซึ่งพบที่อ่างกาบนยอดดอยอินทนนท์ แต่ไม่สามารถตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ได้ เนื่องจากไม่พบตัวดักแด้และตัวเต็มวัย *S. chaliowae* พบเฉพาะตัวดักแด้ที่น้ำตกแม่แคม จังหวัดแพร่ และ *S. triglobus* พบตัวอ่อนและตัวดักแด้ที่บริเวณน้ำตกต้นตอง อุทยานแห่งชาติดอยภูคา จังหวัดน่าน ริ้นดำที่มีการแพร่กระจายอย่าง

กว้างขวางในบริเวณภาคเหนือ คือ *S. fenestratum*, *S. tani* และ *S. siamense* นอกจากนี้ยังมีริ้นดำอีกหลายสปีชีส์ที่ไม่พบในเขตภาคเหนือแต่พบในภาคอื่น เช่น *S. sheilae, S. aureohirtum* และ *S. nobile*

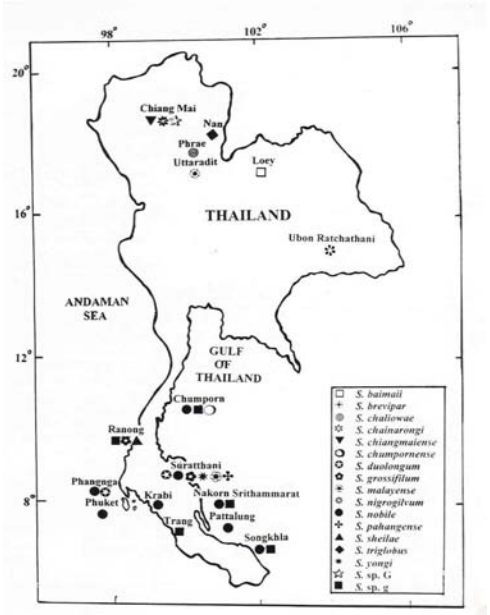
*ภาคตะวันออก:* จากการสำรวจชนิดและการแพร่กระจายของตัวอ่อนริ้นดำในเขตน้ำไหล 5 แห่ง คือ น้ำตกปางสีดา อุทยานแห่งชาติปางสีดา จังหวัดสระแก้ว น้ำตกพลิ้ว อุทยานแห่งชาติน้ำตกพลิ้ว น้ำตกเขาสอยดาว เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาสอยดาว จังหวัดจันทบุรี น้ำตกกระทิง อุทยานแห่งชาติเขาคิชฌกูฏ และน้ำตกเขาชะเมา อุทยานแห่งชาติเขาชะเมา-เขาวง จังหวัดระยอง พบตัวอ่อนริ้นดำที่ได้ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์แล้วจำนวน 8 สปีชีส์ คือ *S. fenestratum, S. tani, S. asakoae, S. siamense, S. nakhonense, S. quinquestriatum, S. parahiyangum* และ *S. angulistylum* ริ้นดำที่พบเป็นจำนวนมากในภาคนี้ คือ *S. fenestratum* และ *S. tani*

*ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ:* จากการศึกษาแยกชนิดของตัวอ่อนและตัวดักแด้บริเวณแหล่งน้ำไหล 18 แห่ง ในเขต 5 จังหวัด คือ นครราชสีมา (อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่) ชัยภูมิ (อุทยานแห่งชาติไทรทอง) อุบลราชธานี (อุทยานแห่งชาติภูจอง-นายอย และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่ายอดโดม) ขอนแก่น (อุทยานแห่งชาติภูพาน) และเลย (อุทยานแห่งชาติภูกระดึง) พบริ้นดำจำนวนทั้งหมด 12 สปีชีส์ ซึ่งเป็นสปีชีส์ที่ยังไม่ได้ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ 1 สปีชีส์ คือ *S.* sp. e และเป็นสปีชีส์ใหม่ 2 สปีชีส์ คือ *S. chainarongi* และ *S. baimaii* *S. chainarongi* พบที่บริเวณแก่งลำดวน เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่ายอดโดมและน้ำตกห้วยหลวงในเขตอุทยานแห่งชาติภูจอง-นายอย จังหวัดอุบลราชธานี และพบตัวอ่อนของ *S. baimaii* เป็นจำนวนมากเกาะอยู่บนก้อนหิน บริเวณน้ำตกพระองค์ และน้ำตกผาน้ำผ่า อุทยานแห่งชาติภูกระดึง จังหวัดเลย แต่ไม่สามารถวินิจฉัยว่า *S. baimaii* อยู่ในสกุลย่อยใด เพราะไม่มีตัวอย่างของตัวดักแด้และตัวเต็มวัย สปีชีส์ใหม่ทั้งสองนี้พบเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ภาพที่ 5) ริ้นดำที่มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางและมีจำนวนมากในภาคนี้ คือ *S. siamense* อย่างไรก็ตาม ยังมีริ้นดำบางสปีชีส์ที่พบในภาคอื่นแต่ไม่พบในภาคนี้คือ *S. quinquestriatum*

*ภาคกลาง:* แหล่งน้ำไหลธรรมชาติบริเวณภาคกลางมีจำนวนไม่มากเหมือนภาคเหนือและภาคใต้ จากการสำรวจแหล่งน้ำไหล 2 แห่ง ในบริเวณ 2 จังหวัดของภาคกลาง พบ



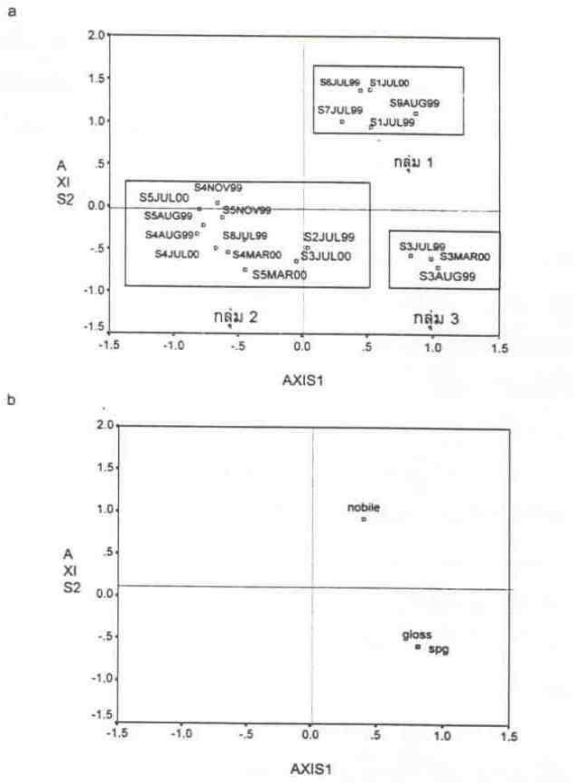

ภาพที่ 4. การแพร่กระจายของตัวอ่อนริ้นดำจำนวน 17 ชนิด ในแหล่งน้ำไหล 12 แห่ง บริเวณอุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่ แหล่งน้ำแสดงด้วยตัวเลข 1-12 ดังนี้ 1) น้ำตกแม่ยะ (520 เมตร.) 2) น้ำตกแม่กลาง (400 เมตร) 3) น้ำตกวังควาย (410 เมตร) 4) น้ำตกวชิรธาร (700 เมตร) 5) น้ำตกห้วยทรายเหลือง (1,010 เมตร) 6) น้ำตกออบน้อย (1,010 เมตร) 7) ที่ทำการดอยอินทนนท์ (1,180 เมตร) 8) โครงการหลวงไม้ดอกไม้ประดับ (1,250 เมตร) 9) น้ำตกสิริภูมิ (1,270 เมตร) 10) ขุนห้วยแห้ง (1,280 เมตร) 11) กิ่วแม่ปาน (2,300 เมตร) 12) อ่างกา (2,460 เมตร) ชื่อสปีชีส์แสดงด้วยอักษร A-Q ดังนี้ A = *Simulium caudisclerum*; B = *S. feuerborni*; C = *S. nigrogilvum*; D = *S. siripoomense*; E = *S. quinquestriatum*; F = *S. rudnicki*; G = *S.* sp. G; H = *S.* sp. H; I = *S. tani*; J = *S.* sp J; K = *S. asakoae*; L = *S.* sp. L; M = *S. fenestratum*; N = *S. inthanonense*; O = *S. nakhonense*; P = *S. chamlongi*; Q = *S. rufibasis*




ภาพที่ 5. การแพร่กระจายของตัวอ่อนริ้นดำจำนวน 17 ชนิด ที่พบเฉพาะในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของประเทศไทย

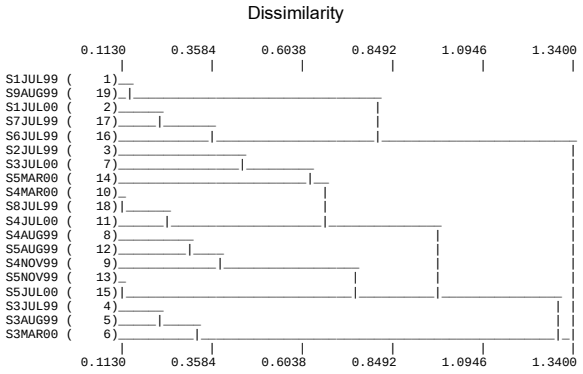
ริ้นดำจำนวน 3 สปีชีส์ คือ *S. siamense* ซึ่งพบเป็นจำนวนมากที่สุด (90.9%) ที่บริเวณวังตะไคร้ จังหวัดนครนายก และพบ *S. nakhonense* และ *S. quinquestriatum* จำนวนเล็กน้อยในลำธารบริเวณอุทยานแห่งชาติแม่วงก์ จังหวัดนครสวรรค์

*ภาคใต้:* ในบริเวณแหล่งน้ำไหลธรรมชาติ 33 แห่ง ในเขต 12 จังหวัดภาคใต้ คือ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (2 แห่ง) ชุมพร (1 แห่ง) ระนอง (5 แห่ง) สุราษฎร์ธานี (6 แห่ง) นครศรีธรรมราช (6 แห่ง) ตรัง (1 แห่ง) สตูล (1 แห่ง) พัทลุง (3 แห่ง) สงขลา (2 แห่ง) กระบี่ (2 แห่ง) พังงา (3 แห่ง) และภูเก็ต (2 แห่ง) พบริ้นดำจำนวน 20 สปีชีส์ เป็นสปีชีส์ที่ยังไม่ได้ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ 1 สปีชีส์ คือ *S.* sp. g และเป็นสปีชีส์ใหม่ 1 สปีชีส์ คือ *S. chumpornense* สปีชีส์ส่วนใหญ่ที่พบในภาคใต้เป็นสปีชีส์ที่พบในภาคอื่น ๆ เช่นกัน ยกเว้นริ้นดำ 8 สปีชีส์ที่พบเฉพาะในแหล่งน้ำไหลของภาคใต้ คือ *S. sheilae, S. nobile, S. yongi* (พบเฉพาะตัวดักแด้), *S.malagense* (พบเฉพาะตัวดักแด้), *S. grossifilum, S pahangense*, *S.* sp. g และสปีชีส์ใหม่ *S. chumpornense* ซึ่งพบตัวอ่อนและตัวดักแด้ที่น้ำตกกะเปาะ จังหวัดชุมพร (ภาพที่ 5) ริ้นดำที่มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในภาคนี้ คือ *S. nobile* และ *S. tani*




ภาพที่ 6. a) การจัดอันดับน้ำตกโดยใช้ Semi-Strong Hybric Multidimentional Scaling (SSH) โดยใช้ข้อมูลการกระจายของตัวอ่อน ริ้นดำ (stress 0.13), b) ความสัมพันธ์ของชนิดของตัวอ่อนริ้นดำกับน้ำตกต่าง ๆ โดยวิธี Principal Axis Correlation

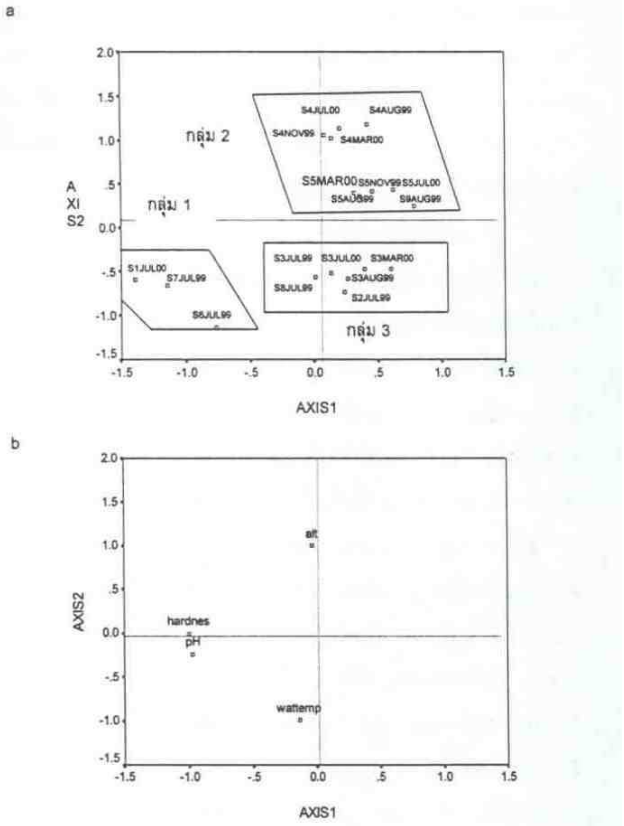
จากการศึกษานี้ จะเห็นว่าภาคเหนือและภาคใต้มีความหลากหลายของชนิดและการแพร่กระจายของตัวอ่อนริ้นดำมากกว่าภูมิภาคอื่น เนื่องจากมีแหล่งน้ำไหลที่มีสภาวะแวดล้อมเหมาะต่อการเพาะพันธุ์ของริ้นดำเป็นจำนวนมาก สปีชีส์ที่มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางเกือบทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ คือ *S. tani, S. fenestratum* และ *S. siamense* อย่างไรก็ตาม ยังมีริ้นดำบางสปีชีส์ที่มีแหล่งเพาะพันธุ์จำเพาะในภูมิภาคใดภูมิภาคหนึ่งเท่านั้น (ภาพที่ 5) เช่น *S. chiangmaiense*, *S. chaliowae*, *S. triglobus* และ *S. nigrogilvum* เฉพาะในภาคเหนือ *S. chainarongi* เฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ *S. nobile, S. pahangense* และ *S. grossifilum* เฉพาะภาคใต้ จากผลนี้ชี้ให้เห็นความสัมพันธ์ของการแพร่กระจายริ้นดำบางสปีชีส์กับแหล่งน้ำเพาะพันธุ์ ดังนั้นคณะวิจัยจึงศึกษาวิเคราะห์พารามิเตอร์ทางเคมีและฟิสิกส์ของแหล่งน้ำเพาะพันธุ์ริ้นดำในเขตภาคใต้ ซึ่งมีจำนวนสปีชีส์ของริ้นดำที่พบเฉพาะในภูมิภาคนี้มากกว่าภาคอื่น



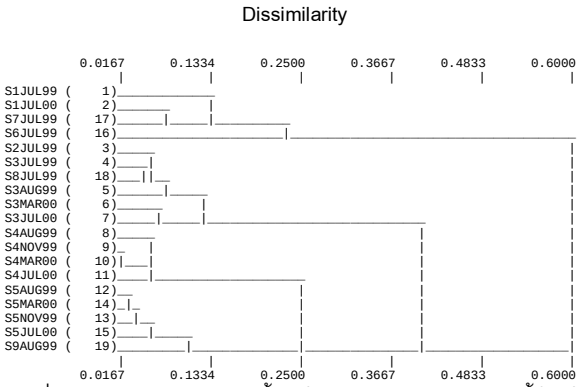

ภาพที่ 7. แสดงการจัดกลุ่มของน้ำตกในการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งโดยใช้ข้อมูลการกระจายของตัวอ่อนริ้นดำ โดยวิธี Gower Metric และ Classification แบบ FUSE Flexible-Beta (Belbin, 1995) ซึ่งจะสอดคล้องกับวิธี SSH ในภาพที่ 6a

### *พารามิเตอร์ทางเคมีและฟิสิกส์ของแหล่งน้ำเพาะพันธุ์ของตัวอ่อนริ้นดำ*

จากการศึกษาการกระจายของชนิดและจำนวนของตัวอ่อนริ้นดำ (ตารางที่ 2) และการวิเคราะห์ตัวแปรคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีของน้ำตกจำนวน 9 แห่ง ใน 6 จังหวัดภาคใต้ (ตารางที่ 3) คือ น้ำตกกะเปาะ จังหวัดชุมพร น้ำตกปุญญบาลและน้ำตกหงาว จังหวัดระนอง น้ำตกดาดฟ้าและน้ำตกเหมืองทวด จังหวัดสุราษฎร์ธานี น้ำตกอ่าวลึก จังหวัดกระบี่ น้ำตกตำหนังและน้ำตกสระนางมโนราห์ จังหวัดพังงา และน้ำตกบางแป จังหวัดภูเก็ต พบว่า การจัดกลุ่มน้ำตกในการเก็บตัวอย่างจำนวน 19 ครั้ง จากน้ำตก 9 แห่ง โดยใช้ข้อมูลการกระจายของตัวอ่อนริ้นดำจากตารางที่ 2 และวิเคราะห์โดยวิธีการจัดอันดับ (ordination) ของ Semi-Strong Hybrid Multidimentional Scaling (SSH) พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มน้ำตกที่ไปเก็บตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่ม (ภาพที่ 6a) ซึ่งสอดคล้องกับการจัดกลุ่มน้ำตกโดยใช้ Gower Metric และ Classification แบบ Fuse Flexible-Beta (ภาพที่ 7) ดังนี้คือ น้ำตกกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยน้ำตกกะเปาะ น้ำตกอ่าวลึก น้ำตกสระนางมโนราห์ และน้ำตกบางแป จากการหาความสัมพันธ์ของน้ำตกเหล่านี้กับชนิดของตัวอ่อนริ้นดำโดยวิธี Principal Axis Correlation พบริ้นดำสปีชีส์ *S. nobile* มีความสัมพันธ์กับกลุ่มน้ำตกนี้ (ภาพที่ 6b) กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย น้ำตกดาดฟ้า น้ำตกเหมืองทวด น้ำตกปุญญบาล และน้ำตกหงาว (เฉพาะที่เก็บเดือนกรกฎาคม 2543) ในน้ำตกกลุ่มนี้พบตัวอ่อนริ้นดำหลายสปีชีส์ เช่น *S. tani*, *S. nakhonense* และ *S. fenestratum* และน้ำตกกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยน้ำตกหงาว (ยกเว้นเดือนกรกฎาคม 2543) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับ *S. glossifilum* และ *S.* sp. G




ภาพที่ 8. a) การจัดอันดับน้ำตกโดยใช้ Semi-Strong Hybrid Multidimentional Scaling (SSH) โดยใช้ค่าคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี (stress 0.08), b) ความสัมพันธ์ของตัวแปรคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีกับน้ำตกต่าง ๆ โดยวิธี Principal Axis Correlation



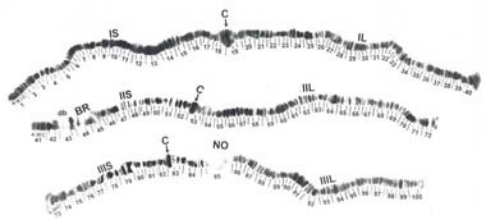

ภาพที่ 9. แสดงการจัดกลุ่มของน้ำตกในการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งโดยใช้ค่าคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี โดยวิธี Gower Metric และ Classification แบบ FUSE Flexible-Beta (Belbin, 1995) ซึ่งจะสอดคล้องกับวิธี SSH ในภาพที่ 8a

ในการวิเคราะห์จัดกลุ่มน้ำตกต่างๆ โดยใช้ค่าตัวแปรคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีโดยวิธี SSH (ภาพที่ 8a) และวิธี Gower Metric และ Classification แบบ Fuse Flexible-beta (ภาพที่ 9) ได้ผลแบบเดียวกัน คือ สามารถแยกกลุ่มน้ำตกออกเป็น 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วยสมาชิกคล้ายคลึงกับการใช้ข้อมูลการกระจายของตัวอ่อนริ้นดำดังนี้ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย น้ำตกกะเปาะ น้ำตกอ่าวลึก และน้ำตกสระนางมโนราห์ จากการวิเคราะห์อิทธิพลของตัวแปรคุณภาพใดที่มีผลต่อน้ำตกเหล่านี้โดยใช้ Principal Axis Correlation พบว่าค่าความกระด้างของน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิที่ค่อนข้างสูงสัมพันธ์

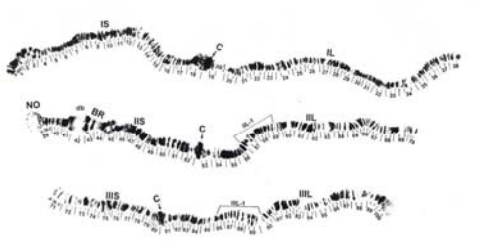
กับน้ำตกเหล่านี้ (ภาพที่ 8b) กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย น้ำตกเหมืองทวด น้ำตกดาดฟ้า และน้ำตกบางแป ค่าตัวแปรที่เกี่ยวข้อง คือ ความสูง ซึ่งน้ำตกเหล่านี้จะอยู่ในระดับความสูงตั้งแต่ 100 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลขึ้นไป กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย น้ำตกหงาว น้ำตกปุญญบาล และน้ำตกตำหนัง ตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับน้ำตกกลุ่มนี้ คือ อุณหภูมิที่ค่อนข้างสูง

ในการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหวางชนิดของริ้นดำกับตัวแปรคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS ศึกษาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ r ถ้าค่า r สูง แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันมาก และใช้ระดับความเชื่อมั่น 95% (p=0.05) ถ้า p น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าริ้นดำชนิดนั้นมีความสัมพันธ์กับตัวแปรนั้นอย่างมีนัยสำคัญ จากการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าความสูงมีความสัมพันธ์กับ *S. fenestratum*, *S. tani*,

*S. nakhonense*, *S. chumpornense* และ *S. nobile* อุณหภูมิน้ำมีความสัมพันธ์กับ S. sheilae ความเป็นกรด-ด่างมีความสัมพันธ์กับ *S. nobile*, *S. sheilae*, *S. tani* และ *S. chumpornense* ความเร็วกระแสน้ำมีความสัมพันธ์กับ *S. tani* และ *S. nakhonense* ความกระด้างของน้ำมีความสัมพันธ์กับ *S. nobile*, *S. chumpornense* และ *S. glossifilum* ซัลเฟตมีความสัมพันธ์กับ *S. tani*, *S. nakhonense*, *S. nobile* และ *S. parahiyangum* และไนเตรตมีความสัมพันธ์กับ *S. glossifilum* และ *S. chumpornense*




ภาพที่ 10. แผนที่มาตรฐานแสดงแบบแผนของแบนด์ของโพลีทีนโครโมโซมของริ้นดำชนิด *Simulium nobile*. C = centromere; NO = nucleolar organizer; BR = Ring of Balbiani; db = double bubble




ภาพที่ 11. แผนที่มาตรฐานแสดงแบบแผนของแบนด์ของโพลีทีนโครโมโซมของริ้นดำชนิด *Simulium nodosum* พร้อมทั้งแสดงตำแหน่งและจุดแยกของอินเวอร์ชันบนแขน IIL และ IIIL. C = centromere; NO = nucleolar organizer; BR = Ring of Balbiani; db = double bubble

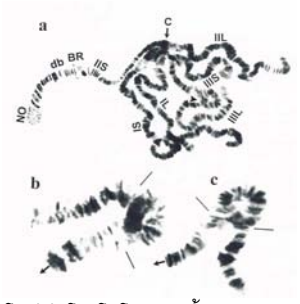
จากการศึกษาจะเห็นว่าตัวแปรคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี สามารถแบ่งกลุ่มน้ำตกออกเป็นกลุ่ม ๆ ซึ่งแต่ละกลุ่มมีความสัมพันธ์กับการกระจายของสปีชีส์ของริ้นดำต่างกัน นอกจากนี้ริ้นดำบางสปีชีส์มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับตัวแปรคุณภาพน้ำชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ในการป้องกันและกำจัดตัวอ่อนริ้นดำที่เป็นพาหะนำโปรโตซัวและไวรัสไปสู่สัตว์เลี้ยงหรือสู่คนในอนาคต

***เซลล์พันธุศาสตร์***

*ศึกษาแบนด์ของโพลีทีนโครโมโซมโดยการย้อมด้วยสีออร์ซีน*

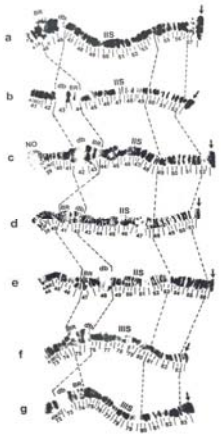
ในการศึกษาแบบแผนการเรียงตัวของแบนด์ของโพลีทีนโครโมโซมที่มาจากต่อมน้ำลายของตัวอ่อนจำนวน 18 สปีชีส์ ซึ่งจัดอยู่ใน 4 สกุลย่อยดังนี้ สกุลย่อย *Nevermannia* จำนวน 2 สปีชีส์ คือ *S. caudisclerum* และ *S. feuerborni* สกุลย่อย *Montisimulium* 1 สปีชีส์ คือ *S.* sp. G สกุลย่อย *Gomphostilbia* 5 สปีชีส์ คือ *S. angulistylum*, *S. asakoae*, *S. decuplum*, *S. siamense* และ *S.* sp. g และสกุลย่อย *Simulium* จำนวน 10 สปีชีส์ ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่ต่างกันจำนวน 4 กลุ่ม คือ *striatum* จำนวน 3 สปีชีส์ (*S. chiangmaiense, S. quinquestriatum* และ *S. nakhonenese*) *nobile* 2 สปีชีส์ (*S. nobile* และ *S. nodosum*) *tuberosum* 2 สปีชีส์ (*S. tani* และ *S. rufibasis*) *multistriatum* 2 สปีชีส์ (*S. fenestratum* และ *S. chainarongi*) และ ungrouped species 1 สปีชีส์ คือ *S. rudnicki* พบว่าริ้นดำทั้ง 18 สปีชีส์ มีจำนวนโพลีทีนโครโมโซม 3 คู่ (2n=6) โครโมโซมแท่งที่ 1 ยาวที่สุด รองลงมา คือ โครโมโซมแท่งที่ 2 และโครโมโซมแท่งที่ 3 สั้นที่สุด แต่ละโครโมโซมประกอบด้วยแขนสองแขนซึ่งจะมีความยาวเท่ากันหรือไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ (ตารางที่ 4) การเรียงตัวของแบนด์ของโพลีทีนโครโมโซมและลักษณะอื่นๆ ของโครโมโซม เช่น ตำแหน่งและลักษณะของเซนโทรเมียร์ ตำแหน่งของนิวคลีโอลาร์ออร์แกไนเซอร์และพัฟป์ (วง

แหวนบัลบิอะนิ) เป็นลักษณะจำเพาะของแต่ละสปีชีส์ (ภาพที่ 10, 11) และมีความแตกต่างกันแม้ว่าสปีชีส์เหล่านั้นจะอยู่ในกลุ่มหรือสกุลเดียวกัน (Kuvangkadilok et al., 1999b) เช่น นิวคลีโอลาร์ออร์แกไนเซอร์ของ *S. nobile* อยู่บนโครโมโซมที่ 3 (ภาพที่ 10) ในขณะที่ *S. nodosum* ซึ่งอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกันกับ *S. nobile* อยู่ปลายสุดของโครโมโซมที่ 2 (ภาพที่ 11) บริเวณเซนโทรเมียร์บนโพลีทีนโครโมโซมของ *S. nobile*, *S. chainarongi*, *S. rufibasis*, *S. nakhonense* และ *S. rudnicki* ซึ่งอยู่คนละกลุ่มของสกุลย่อย *Simulium* มีลักษณะโป่งพองออกมาเห็นชัดเจน ซึ่งต่างจากริ้นดำสปีชีส์อื่นที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันหรือต่างกลุ่มกันที่เซนโทรเมียร์มีลักษณะเป็นเส้นดำหนาบ้างบางบ้างและบริเวณเซนโทรเมียร์ไม่โป่งพอง นอกจากนี้เซนโทรเมียร์ของริ้นดำบางตัวของ *S. nakhonense* และ *S. nodosum* มารวมกันเป็นซูโดโครโมเซนเตอร์ (pseudochromocenter) ที่ย้อมติดสีเข้มของคอนสทิทิวทีฟเฮเทโรโครมาทิน (ภาพที่ 12a) ดังนั้นตำแหน่งและลักษณะของเซนโทรเมียร์ นิวคลีโอลาร์ออร์แกไนเซอร์ และวงแหวนบัลบิอะนิ เป็นลักษณะจำเพาะของแต่ละสปีชีส์ ไม่ใช่ลักษณะจำเพาะของแต่ละกลุ่มหรือแต่ละสกุลย่อย อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบการเรียงลำดับของแบนด์ของริ้นดำใน 4 สกุลย่อย พบว่าบางแบนด์บนโครโมโซม IIL และ IIIS ของริ้นดำภายในสกุลย่อยเดียวกันหรือต่างสกุลย่อยมีลักษณะเหมือนกัน (ภาพที่ 13) แสดงให้เห็นว่าแบนด์ที่เหมือนกันเหล่านี้มาจากบรรพบุรุษร่วม (common ancestor) ซึ่งถูกถ่ายทอดไปยังริ้นดำแต่ละสปีชีส์ภายในสกุลย่อยเดียวกันหรือต่างกัน

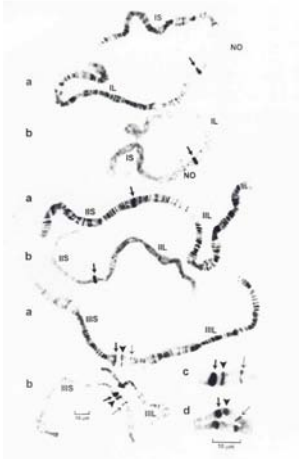



ภาพที่ 12. โพลีทีนโครโมโซมของริ้นดำชนิด *Simulium nodosum* ที่เซนโทรเมียร์มารวมกันฟอร์มเป็นซูโดโครโมเซนเตอร์ (a) เฮเทโรไซกัสอินเวอร์ชันแบบ IIL-st/1 (b) และ IIIL-st/1 (c) ในประชากรริ้นดำ *S. nodosum* ลูกศรแสดงทิศทางของเซนโทรเมียร์

ในการศึกษานี้ยังพบพาราเซนทริกอินเวอร์ชัน (paracentric inversions) ในประชากรริ้นดำ 8 สปีชีส์ ที่เก็บมาจากแหล่งน้ำไหลต่างกัน โดยพบพาราเซนทริกอินเวอร์ชัน 3 แห่ง (IL-1, IIIL-1 และ IIIL-2) ในประชากรริ้นดำสปีชีส์ *S. tani* 2 แห่ง (IIL-1 และ IIIL-1) ใน *S. nodosum* (ภาพที่ 13b, 13c) 3 แห่ง (IS-1, IIL-1 และ IIIL-1) ใน *S. chiangmaiense* 3 แห่ง (IL-1, IIL-1 และ IIIL-1) ใน *S. asakoae* 3 แห่ง (IS-1, IL-1 และ IIL-1) ใน *S. siamense* 2 แห่ง (IIL-1 และ IIIL-1) ใน *S. angulistylum* 1 แห่ง (IIIL-1) ใน *S. decuplum* และ 6 แห่ง (IS-1, IL-1, IIL-1, IIL-2, IIIS-1 และ IIIL-1) ใน *S. feuerborni* จากการทดสอบทางสถิติพบว่าอินเวอร์ชัน IIIL-1 ของ *S. feuerborni* ที่เก็บมาจากน้ำตกห้วยทรายเหลือง ไม่อยู่ในสภาวะสมดุลภายใต้กฎฮาร์ดีไวน์เบิร์กอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% เนื่องจากมีกลุ่มประชากรที่มียีโนไทป์แบบเฮเทโรไซโกต (IIIL-st/1) น้อยกว่าปกติ ซึ่งชี้ให้เห็นว่ามีสองยีนพูลในประชากรกลุ่มนี้ (Kuvangkadilok et al., 1999c) จากการศึกษายังพบว่าอินเวอร์ชันของริ้นดำทั้ง 8 สปีชีส์ไม่มีความสัมพันธ์กับเพศ ดังนั้นจึงไม่ทราบว่าโครโมโซมแท่งใดเป็นโครโมโซมเพศ (X หรือ Y) ในประชากรริ้นดำเหล่านี้



ภาพที่ 13. (ซ้าย) แสดงแบนด์ที่มีลักษณะเหมือนกันบนโครโมโซมแขน IIS และ IIIS ของริ้นดำในสกุลย่อย *Simulium* จำนวน 8 ชนิด ดังนี้ *Simulium chainarongi* (a), *S. nobile* (b), *S. nodosum* (c), *S. tani* (d), *S. chiangmaiense* (e), *S. quinquestriatum* (f) และ *S. rudnicki* (g) ลูกศรแสดงตำแหน่งเซนโทรเมียร์ เส้นประแสดงขอบเขตของแบนด์ที่มีลักษณะเหมือนกัน




ภาพที่ 14. (ขวา) โพลีทีนโครโมโซมของริ้นดำชนิด *Simulium nakhonense* ที่ย้อมด้วยสีออร์ซีน (a) และสีกิมซาแสดงแถบสีซี (b) I-III = แท่งโครโมโซม; S = โครโมโซมแขนสั้น; L = โครโมโซมแขนยาว; NO = นิวคลีโอลาร์ออร์แกไนเซอร์ ลูกศรใหญ่แสดง centromeric C-bands ลูกศรเล็กแสดง interstitial C-bands หัวลูกศรแสดงโฮโมโลกัสแบนด์ของ sex-linked interstitial heterochromatin ในตัวผู้ (c) และเฮเทโรไซกัสแบนด์ในตัวเมีย (d)

ตารางที่ 2. เปอร์เซนต์ความยาวของแขนโครโมโซม (±SD) และจำนวนส่วนย่อยที่แบ่งในแต่ละแขนโครโมโซมของแมลงริ้นดำใน 4 กลุ่มย่อย จำนวน 18 สปีชีส์

| Species | Chromosome I | | | Chromosome II | | | Chromosome III | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S* | L* | R** | S | L | R | S | L | R |
| *S. (G.) angulistylum* | 18.08±1.1 (18) | 22.69±0.7 (23) | 1.3 (M) | 10.23±0.5 (10) | 20.65±0.7 (21) | 2.1 (SM) | 11.25±1.1 (11) | 17.40+0.89 (17) | 1.6 (SM) |
| *S. (G.) asakoae* | 18.85±0.6 (19) | 21.40±1.2 (21) | 1.1 (M) | 13.32±0.4 (13) | 17.52±0.8 (18) | 1.4 (SM) | 11.30±0.5 (11) | 17.60+0.8 (18) | 1.6 (SM) |
| *S. (G.) decuplum* | 15.30±1.1 (15) | 25.68±1.1 (26) | 1.7 (SM) | 14.80±0.8 (15) | 16.35+0.8 (16) | 1.1 (M) | 7.25±0.9 (7) | 20.90±0.9 (21) | 3.0 (SM) |
| *S. (G.) siamense* | 19.80±0.6 (20) | 22.29±0.9 (22) | 1.1 (M) | 12.65±0.6 (13) | 17.80±0.7 (18) | 1.4 (M) | 10.40±0.8 (10) | 17.22±0.8 (17) | 1.7 (SM) |
| *S. (G.)* sp. g | 18.40±0.8 (18) | 24.72±1.0 (25) | 1.4 (M) | 11.35±0.4 (11) | 17.65±0.7 (18) | 1.6 (SM) | 10.32±0.5 (10) | 18.42±0.9 (18) | 1.8 (SM) |
| *S. (M.)* sp. G | 19.23±1.2 (19) | 20.16±1.4 (20) | 1.1 (M) | 10.67±1.5 (11) | 20.33±1.5 (21) | 1.9 (SM) | 10.40±1.3 (10) | 18.70±1.3 (19) | 1.9 (SM) |
| *S. (N.) caudisclerum* | 19.48±1.5 (19) | 21.79±1.4 (22) | 1.2 (M) | 10.88±1.4 (11) | 17.81±1.3 (19) | 1.7 (SM) | 12.36±1.4 (11) | 18.10±1.5 (18) | 1.6 (SM) |
| *S. (N.) feuerborni* | 20.28±1.1 (20) | 21.40±1.3 (21) | 1.1 (M) | 9.74±0.9 (10) | 21.66±1.0 (22) | 2.2 (SM) | 10.62±0.6 (11) | 15.52±0.8 (16) | 1.5 (SM) |
| *S. (S.) chainarongi* | 18.60±1.2 (19) | 24.53±1.3 (25) | 1.3 (M) | 13.38±0.9 (13) | 19.10+1.1 (19) | 1.4 (M) | 8.40+0.9 (8) | 16.30+1.3 (16) | 1.9 (SM) |
| *S. (S.) chiangmaiense* | 20.28±1.3 (20) | 22.61±0.8 (23) | 1.2 (M) | 13.15±1.2 (13) | 17.10±1.2 (17) | 1.3 (M) | 10.04±0.8 (10) | 16.82±0.9 (17) | 1.7 (SM) |
| *S. (S.) fenestratum* | 18.08±0.7 (18) | 20.60±0.8 (21) | 1.2 (M) | 13.08±1.4 (14) | 18.25±1.3 (18) | 1.3 (M) | 11.03±0.7 (10) | 18.97±1.4 (19) | 1.9 (SM) |
| *S. (S.) nakhonense* | 2053±1.3 (21) | 21.76±1.3 (22) | 1.0 (M) | 10.10±1.2 (10) | 18.16±1.4 (19) | 1.9 (SM) | 11.42±0.8 (11) | 17.31±1.4 (17) | 1.5 (SM) |
| *S. (S.) nobile* | 18.13±1.1 (18) | 21.90±1.1 (22) | 1.2 (M) | 12.30±0.9 (12) | 19.90+0.9 (20) | 1.6 (SM) | 9.50+0.8 (10) | 17.80±0.8 (18) | 1.9 (SM) |
| *S. (S.) nodosum* | 18.17±1.4 (18) | 20.11±1.3 (20) | 1.1 (M) | 13.80±1.1 (14) | 18.40±1.3 (18) | 1.3 (M) | 9.56±0.7 (10) | 19.80±1.4 (20) | 2.0 (SM) |
| *S. (S.) quinquestriatum* | 19.45±1.0 (19) | 22.60±0.6 (23) | 1.2 (M) | 8.31±0.4 (8) | 21.54±1.4 (22) | 2.6 (SM) | 11.40±0.6 (11) | 17.35±0.4 (17) | 1.5 (SM) |
| *S. (S.) rudnicki* | 18.50±1.1 (19) | 19.50±0.9 (20) | 1.0 (M) | 12.40±1.0 (12) | 19.85±1.3 (20) | 1.6 (SM) | 11.51±0.8 (12) | 16.95±0.8 (17) | 1.5 (SM) |
| *S. (S.) rufibasis* | 18.90±1.0 (19) | 21.78±0.9 (22) | 1.2 (M) | 12.41±1.0 (12) | 17.91±1.2 (18) | 1.5 (SM) | 11.81±0.8 (12) | 17.19±1.4 (17) | 1.4 (M) |
| *S. (S.) tani* | 17.62±1.1 (18) | 20.21±1.2 (20) | 1.1 (M) | 13.10±0.7 (13) | 18.55±1.3 (19) | 1.5 (SM) | 12.40+0.9 (12) | 18.10±1.0 (18) | 1.5 (SM) |

* S และ L หมายถึงโครโมโซมแขนสั้นและยาว ตามลำดับ

** R หมายถึงสัดส่วนของความยาวโครโมโซมแขนยาว/แขนสั้น, M คือ เมทาเซนทริก หรือ SM คือ ซับเมทาเซนทริก

ตารางที่ 3. การกระจายของตัวอ่อนริ้นดำในแหล่งน้ำภาคใต้ที่มีการทดสอบตัวแปรของสิ่งแวดล้อมและคุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมี

| แหล่งเพาะพันธุ์ | วันเดือนปี | จำนวนที่เก็บ | *S. fenestratum* | *S. tani* | *S. nakhonense* | *S. noble* | *S. parahiyangum* | *S. rudnicki* | *S. glossifilum* | *S. duolongum* | *S. angulistylum* | *S. decuplum* | *S. sheilae* | *S. chumpornense* | *S. aureohirtum* | *S. sp. g* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ชุมพร | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกกะเปาะ | 5 ก.ค. 42 | 765 | - | - | 27 | 696 | - | - | - | - | - | - | - | 35 | - | 7 |
| | 31 ก.ค. 43 | 150 | - | - | - | 146 | - | - | - | - | - | - | - | 4 | - | - |
| ระนอง | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกปุญญบาล | 4 ก.ค. 42 | 296 | 5 | 94 | 3 | - | - | - | 3 | - | 13 | - | - | - | - | 178 |
| - น้ำตกหงาว | 4 ก.ค. 42 | 658 | - | - | - | - | - | - | 9 | - | 23 | - | - | - | - | 626 |
| | 4 ส.ค. 42 | 948 | - | - | - | - | - | 2 | 56 | - | 3 | - | - | - | - | 887 |
| | 13 มี.ค. 43 | 1440 | - | - | - | - | - | - | 24 | - | 39 | - | 21 | - | 156 | 1200 |
| | 30 ก.ค. 43 | 120 | 2 | 55 | 4 | - | - | - | 2 | - | - | - | 1 | - | - | 56 |
| สุราษฎร์ธานี | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกดาดฟ้า | 3 ส.ค. 42 | 510 | 20 | 208 | 280 | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - | - |
| | 4 พ.ย. 42 | 763 | 259 | 310 | 184 | 8 | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - | - |
| | 12 มี.ค. 43 | 174 | - | 155 | 10 | - | - | - | - | - | 9 | - | - | - | - | - |
| | 29 ก.ค. 43 | 226 | 44 | 161 | 18 | - | 2 | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - |
| - น้ำตกเหมืองทวด | 3 ส.ค. 42 | 892 | - | 440 | 412 | - | 10 | - | 1 | - | 29 | - | - | - | - | - |
| | 4 พ.ย. 42 | 1093 | 34 | 1015 | 13 | - | - | - | 1 | - | 23 | 5 | - | - | - | 2 |
| | 24 มี.ค. 43 | 50 | - | 42 | 3 | - | - | - | - | - | 5 | - | - | - | - | - |
| | 29 ก.ค. 43 | 1363 | 55 | 1199 | 24 | - | 14 | - | - | - | 71 | - | - | - | - | - |
| กระบี่ | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกอ่าวลึก | 2 ก.ค. 42 | 252 | - | - | - | 252 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| พังงา | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกสระนางมโนราห์ | 3 ก.ค. 42 | 139 | - | - | - | 114 | - | - | - | - | 25 | - | - | - | - | - |
| - น้ำตกตำหนัง | 3 ก.ค. 42 | 144 | - | 126 | 10 | 2 | - | - | - | 1 | 5 | - | - | - | - | - |
| ภูเก็ต | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกบางแป | 2 ส.ค. 42 | 875 | - | - | - | 867 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 8 |

ตารางที่ 4. ตัวแปรคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีของแหล่งเพาะพันธุ์ตัวอ่อนริ้นดำในเขตภาคใต้

| แหล่งเพาะพันธุ์ | วันเดือนปี | Altitude (m.) | Air temperature (OC) | Water temperature (OC | Humidity (%) | pH | Dissolved oxigen (mg/l) | Water current (m/s) | Water hardness (mg/l) | Sulphate (mgl) | Potassium (mg/l) | Iron (mg/l) | Aluminium (mg/l) | Ammonia (mg/l) | Nitrite (mg/l) | Nitrate (mg/l) | Phosphate (mg/l) | Silica (mg/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ชุมพร | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกกะเปาะ | 5 ก.ค. 42 | 40 | 32.1 | 27.0 | 71 | 9.4 | - | 4.76 | 212 | 5 | 1.4 | 0.40 | 0.02 | 0.03 | 0 | 0.19 | 0 | 12 |
| | 31 ก.ค. 43 | 40 | 26.4 | 29.3 | 80 | 9.1 | 4.06 | - | 160 | 6 | 2.1 | 0.41 | 0 | 0.92 | 0.05 | 0.32 | 0.50 | 12 |
| ระนอง | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกปุญญบาล | 4 ก.ค. 42 | 50 | 24.4 | 24.5 | 91 | 8.4 | - | 1.13 | 4 | 4 | 5.0 | 0.06 | 0.05 | 0.04 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| - น้ำตกหงาว | 4 ก.ค. 42 | 50 | 28.8 | 26.5 | 81 | 8.1 | - | 3.41 | 4 | 6 | 1.3 | 0.26 | 0.04 | 0.09 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| | 4 ส.ค. 42 | 50 | 26.2 | 24.8 | 85 | 8.3 | 7.96 | 5.86 | 0 | 5 | 1.8 | 0.09 | 0.30 | 0.06 | 0.04 | 0 | 0.20 | 6 |
| | 13 มี.ค. 43 | 50 | 30.5 | 29.7 | 61 | 7.4 | 7.47 | 6.10 | 4 | 6 | 1.9 | 0 | 0 | 0.12 | 0.01 | 0.02 | 0.40 | 14 |
| | 30 ก.ค. 43 | 50 | 30.4 | 27.4 | 73 | 7.2 | 7.14 | - | 4 | 4 | 0.4 | 0.19 | 0 | 0.21 | 0.01 | 0.03 | 0.40 | 12 |
| สุราษฎร์ธานี | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกดาดฟ้า | 3 ส.ค. 42 | 200 | 32.5 | 23.3 | 55 | 7.8 | 8.31 | 8.47 | 4 | 6 | 1.9 | 0.10 | 0.01 | 2.45 | 0.03 | 0.18 | 0 | 11 |
| | 4 พ.ย. 42 | 200 | 24.8 | 22.3 | 80 | 7.7 | 8.54 | 8.78 | 4 | 5 | 1.8 | 0.11 | 0.04 | 0.17 | 0 | 0.07 | 0.50 | 8 |
| | 12 มี.ค. 43 | 200 | 25.6 | 22.5 | 78 | 7.8 | 8.43 | 6.38 | 4 | 4 | 2.0 | 0.20 | 0.04 | 0.14 | 0.02 | 0.09 | 0.08 | 13 |
| | 29 ก.ค. 43 | 200 | 28.2 | 23.6 | 68 | 7.6 | 8.00 | - | 8 | 4 | 4.7 | 0.22 | 0 | 0.68 | 0.04 | 0 | 1.30 | 9 |
| - น้ำตกเหมืองทวด | 3 ส.ค. 42 | 120 | 29.9 | 24.6 | 76 | 8.1 | 8.31 | 7.73 | 4 | 4 | 1.5 | 0.49 | 0 | 1.96 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| | 4 พ.ย. 42 | 120 | 26.8 | 23.6 | 67 | 7.8 | 6.90 | 8.86 | 4 | 5 | 2.8 | 0.14 | 0.03 | 0.14 | 0.06 | - | 0 | 11 |
| | 24 มี.ค. 43 | 120 | 25.6 | 22.7 | 76 | 7.8 | 6.90 | 6.80 | 4 | 4 | 2.1 | 0.18 | 0.05 | 0.16 | 0.01 | 0.10 | 0.04 | 15 |
| | 29 ก.ค. 43 | 120 | 30.0 | 25.7 | 62 | 7.5 | 7.73 | - | 4 | 4 | 2.9 | 0.66 | 0 | 2.30 | 0.02 | 0.11 | 1.50 | 14 |
| กระบี่ | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกอ่าวลึก | 2 ก.ค. 42 | 25 | 28.5 | 26.0 | 82 | 8.7 | 9.60 | 4.40 | 84 | 13 | 5.0 | 0.67 | 0.02 | 0.58 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| พังงา | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกสระนางมโนราห์ | 3 ก.ค. 42 | 50 | 25.2 | 25.0 | 85 | 9.4 | - | 4.18 | 140 | 5 | 1.5 | 0.26 | 0.01 | 0.06 | 0.01 | 0 | 0.6 | 9 |
| - น้ำตกตำหนัง | 3 ก.ค. 42 | 50 | 26.9 | 25.5 | 82 | 8.5 | - | 5.27 | 12 | 4 | 5.0 | 0.06 | 0.05 | 0.04 | 0 | 0.05 | 0 | 9 |
| ภูเก็ต | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| - น้ำตกบางแป | 2 ส.ค. 42 | 100 | 32.5 | 23.3 | 55 | 7.8 | 8.31 | 8.47 | 4 | 6 | 1.9 | 0.10 | 0.01 | 2.45 | 0.03 | 0.18 | 0 | 11 |

*แถบสีซีของโพลีทีนโครโมโซมโดยการย้อมด้วยสีกิมซา*

ในการศึกษาแถบสีซีบนโครโมโซมของริ้นดำ 6 สปีชีส์ คือ *S. caudisclerum, S. feuerborni, S. rufibasis, S. nakhonense* และ *S.* sp. G โดยวิธีย้อม C-banding พบว่ามีความแตกต่างของปริมาณและการกระจายของคอนสทิทิวทีฟเฮเทโรโครมาทิน (constitutive heterochromatin) ระหว่างสปีชีส์และภายในสปีชีส์เดียวกัน (Kuvangkadilok et al, 1998) ตัวอ่อนริ้นดำสปีชีส์ *S. rufibasis* ที่เก็บจากสถานที่ต่างกัน คือ จากกิ่วแม่ปานและน้ำตกสิริภูมิ บริเวณอุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่ แสดงแบบแผนของแถบสีซีสองแบบ แถบสีซีแบบที่สองซึ่งเป็นของประชากรที่เก็บจากน้ำตกสิริภูมิ มีปริมาณเฮเทโรโครมาทินบริเวณเซนโทรเมียร์และบนแขนโครโมโซมบางแห่งมากกว่าแบบที่หนึ่งที่เก็บจากกิ่วแม่ปาน จากการเปรียบเทียบแบบแผนแถบสีซีของริ้นดำชนิดต่าง ๆ กับชนิด *S. caudisclerum* ซึ่งคาดว่าเป็นสปีชีส์ที่ใกล้เคียงกับบรรพบุรุษมากที่สุด สามารถแบ่งกลุ่มริ้นดำออกเป็น 3 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มมีปริมาณเฮเทโรโครมาทินบริเวณเซนโทรเมียร์และบางแห่งบนโครโมโซมต่างกันคือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มริ้นดำที่มีปริมาณเฮเทโรโครมาทินค่อนข้างน้อย ประกอบด้วย ริ้นดำสปีชีส์ *S. caudisclerum* และ *S. fenestratum* กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มริ้นดำที่มีปริมาณเฮเทโรโครมาทินปานกลาง ได้แก่ริ้นดำสปีชีส์ *S. feuerborni* และ *S. rufibasis* (จากกิ่วแม่ปาน) และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยริ้นดำชนิด *S. rufibasis* (จากน้ำตกสิริภูมิ) *S. nakhonense* และ *S.* sp. G ริ้นดำกลุ่มนี้มีปริมาณเฮเทโรโครมาทินค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับริ้นดำกลุ่มที่ 1 และ 2 นอกจากนี้การย้อมแถบสีซียังแสดงให้เห็นว่าแบนด์ 84B2 ซึ่งอยู่บนโครโมโซมแขน IIIL ของริ้นดำสปีชีส์ *S. nakhonense* แสดงลักษณะเป็นเฮเทโรโครมาทินที่มีความสัมพันธ์กับเพศ (sex-linked heterochromatin) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการดิฟเฟเรนทิเอชันของโครโมโซม X และ Y (ภาพที่ 14) และเป็นไปได้ว่ากลไกการตัดสินเพศในริ้นดำสปีชีส์ *S. nakhonense* มีลักษณะเป็น heterogametic sex (XY) ในเพศเมีย และ homogametic sex (XX) ในเพศผู้

วิธีย้อมแถบสีซีสามารถแสดงปริมาณเฮเทโรโครมาทินบริเวณเซนโทรเมียร์ ทีโลเมียร์ และบริเวณอื่นบางแห่งบนโครโมโซม เฮเทโรโครมาทินประกอบด้วยแซเทไลด์ดีเอ็นเอที่มีการเพิ่ม และ/หรือ ลดปริมาณระหว่างวิวัฒนาการของโครโมโซม ริ้นดำชนิด *S. caudisclerum* อยู่ในสกุลย่อย *Nevermannia* เป็นสปีชีส์ดั้งเดิมที่มีปริมาณเฮเทโรโครมาทินน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับริ้นดำสปีชีส์ *S. rufibasis* และ *S. nakhonense* ที่อยู่ในสกุลย่อย *Simulium* และเป็นสปีชีส์สมัยใหม่ที่มีปริมาณเฮเทโรโครมาทินมากกว่า ดังนั้นจึง คาดว่ามีการเพิ่มปริมาณเฮเทโรโครมาทินในระหว่างการวิวัฒนาการของโครโมโซมของริ้นดำ อย่างไรก็ตาม เป็นไปได้ว่ามีการลดปริมาณเฮเทโรโครมาทินในระหว่างการวิวัฒนาการของโครโมโซมของริ้นดำเช่นกัน เนื่องจากแบบแผนของแถบสีซีของริ้นดำชนิด *S. fenestratum* ที่อยู่ในสกุลย่อย *Simulium* มีลักษณะคล้ายคลึงกับริ้นดำชนิด *S. caudisclerum* ดังนั้นการเพิ่มหรือลดปริมาณเฮเทโรโครมาทินอาจมีบทบาทสำคัญในการวิวัฒนาการของโครโมโซมของริ้นดำสปีชีส์ต่าง ๆ

**บทสรุป**

1. งานวิจัยนี้พบริ้นดำจำนวน 42 สปีชีส์ แพร่กระจายในแหล่งน้ำไหลธรรมชาติในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศ
2. ความหลากหลายของสปีชีส์ของริ้นดำพบในเขตภาคเหนือและภาคใต้มากกว่าในภาคอื่น ๆ
3. การแพร่กระจายและความหนาแน่นของตัวอ่อนริ้นดำแต่ละสปีชีส์ ขึ้นอยู่กับพารามิเตอร์ทางเคมีและฟิสิกส์ของแหล่งน้ำเพาะพันธุ์ของตัวอ่อนริ้นดำ เช่น อุณหภูมิน้ำ ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ ความเร็วของกระแสน้ำ และปริมาณแร่ธาตุและออกซิเจนในน้ำ
4. การศึกษาความหลากหลายของสปีชีส์ของริ้นดำนอกจากจะศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัยแล้ว ควรจะศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ด้วย เพื่อให้การวินิจฉัยของสปีชีส์ของริ้นดำถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

ปัญหาสำคัญในงานวิจัยนี้ คือ วิธีการเก็บตัวอย่างของตัวอ่อนริ้นดำที่ค่อนข้างยุ่งยาก เนื่องจากต้องแช่หลอดตัวอ่อนริ้นดำที่ดองในน้ำยา fixative ในน้ำแข็งตลอดเวลา จึงเป็นอุปสรรคในการเดินทางไปเก็บริ้นดำในแหล่งทุรกันดารและระยะทางไกล ๆ ดังนั้นจึงทำให้จำกัดสถานที่ที่จะเก็บตัวอย่างซึ่งมีผลต่อการศึกษาการแพร่กระจายของริ้นดำ นอกจากนี้งานวิจัยนี้ไม่สามารถเลี้ยงแมลงริ้นดำในห้องทดลองได้ เนื่องจากขาดสถานที่และเงินทุนที่จะจำลองแหล่งน้ำไหลที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของริ้นดำ จึงทำให้ไม่สามารถศึกษาพฤติกรรมและชีพจักรของริ้นดำแต่ละสปีชีส์ซึ่งเป็นความรู้ที่จะนำมาหาวิธีป้องกัน ควบคุม และกำจัดตัวอ่อนและตัวเต็มวัยริ้นดำในอนาคต

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 139007 และขอขอบคุณหัวหน้าและผู้ช่วยหัวหน้าอุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่ ที่กรุณาช่วยเหลือและบริการบ้านพักและไฟฟ้า และขอขอบคุณศาสตราจารย์ Hiroyuki Takaoka ภาควิชาควบคุมโรคติดต่อ มหาวิทยาลัยแพทย์ Oita ประเทศญี่ปุ่น ที่กรุณาช่วยวินิจฉัยและยืนยันสปีชีส์ของริ้นดำ ผศ.ดร.นฤมล แสงประดับ และ รศ.ดร.ชุติมา หาญจวณิช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่กรุณาให้ยืมตัวอย่างของตัวอ่อนริ้นดำที่เก็บจากบริเวณอุทยานแห่งชาติภูพาน จังหวัดขอนแก่น และอุทยานแห่งชาติภูกระดึง จังหวัดเลย ผศ.ดร.นฤมล แสงประดับ ที่กรุณาช่วยวิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี อาจารย์ถาวร สุภาพรม ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่กรุณาช่วยเก็บตัวอย่างริ้นดำในบริเวณจังหวัดอุบลราชธานี และนายสิงโต บุญโรจน์พงศ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้กรุณาช่วยเก็บตัวอย่างริ้นดำในบริเวณจังหวัดสงขลา ตรัง สตูล และพัทลุง

## เอกสารอ้างอิง

เฉลียว กุวังคะดิลก, สุวรรณี พยุหเสนา, ชัยณรงค์ บุญเข็มทอง และวิสุทธิ์ ใบไม้. 2544. การแพร่กระจาย สัณฐานวิทยา และเซลล์พันธุศาสตร์ของตัวอ่อนริ้นดำในภาคใต้ของประเทศไทย ใน: พันธุศาสตร์ยุคปฏิวัติยีน สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 12. จัดพิมพ์โดย บริษัทเท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ. หน้า 123-130.

Arteaga, L.T. and d.H.P. Munoz. 1999. New cytotype in the *Simulium metallicum* complex (Diptera: Simuliidae) from Cundinamarca, Colombia. *J. Med. Ent.* 36: 133-140.

Baimai, V. 1988. Constitutive heterochromatin differentiation and evolutionary divergence of karyotype of Oriental *Anopheles* (*Cellia*) *Pacific Science* 42: 13-27.

Baimai, V. 1998. Heterchromatin accumulation and karyotypic evolution in some dipteran species. *Zool. Studies* 37: 75-88.

Baimai, V. and W. Trinachartvanit. 1999. Metaphase karyotype of fruit flies of Thailand. III. Six members of the *Bactrocera dorsalis* complex. *Zool. Studies.* 38: 110-118.

Baimai, V., W. Trinachartvanit, S. Trigvattananont and P.J. Grote. 1996. Metaphase karyotype of fruit flies of Thailand. II. Five species of four subgenera of *Bactrocera*. *J. Sci. Soc. Thailand* 22: 97-104.

Baverstock, P.R., M. Gelder and A. Jahnke. 1982. Cytogenetic studies of the Australian rodent, *Uromys caudimaculatus*, a species showing extensive heterochromatin variation. *Chromosoma* 84: 517-533.

Bedo DG. 1975. C-banding in polytene chromosomes of *Simulium ornatipes* and *S. melatum* (Diptera: Simuliidae). *Chromosoma* 51: 291-300.

Bedo, D.G. 1976. Polytene chromosomes in pupal and adult blackflies (Diptera: Simuliidae). *Chromosoma* 57: 387-396.

Bedo, D.G. 1977. Cytogenetics and evolution of *Simulium ornatipes* Skuse (Diptera: Simuliidae). I. Sibling speciation. *Chromosoma* 64: 37-65.

Bedo D.G. 1979. Cytogenetics and evolution of *Simulium ornatipes* Skuse (Diptera: Simuliidae). II. Temporal variation in chromosome polymorphisms and homosequential sibling species. *Evolution* 33: 296-308.

Belbin, L. 1995. Pattern Analysis Package. Division of Wildlife and Ecology, CSIRO, Australia.

Bhatnagar, S., D. Kaul and R. Chaturvedi. 1980. Chromosomal studies in 3 species of the genus *Dacus* (Ttrypetidae, Diptera). *Genetica* 54: 11-15.

Boakye, D.A. 1993. A pictorial guide to the chromosomal identification of members of the *Simulium damnosum* Theobald complex in West Africa with particular reference to the Onchocerciasis Control Programme Area. *Trop. Med. Parasitol.* 44: 223-244.

Britten, R.J. and D.E. Kohne. 1968. Repeated sequences in DNA. *Science* 161: 529-540.

Carlsson, G. 1962. Studies on Scandinavian black flies. *Opusc. Ent. Suppl.* 21: 1-280.

Carlsson, G. 1968. Benthonic fauna in African watercourses with reference to black fly populations. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 37: 139-150.

Carlsson, M., L.M. Nilsson, B. Svensson, S. Ulfstrand and R.S. Wotton. 1977. Lacustrine seston and other factors influencing the blackflies (Diptera: Simuliidae) inhabiting lake outlets in Swedish Lapland. *Oikos* 29: 229-238.

Charalambous, M., P.D. Ready, A.J. Shelley, M. Arzube and C.A. Lowry. 1993a Cytological and isoenzyme analysis of the Bucay and Quevedo cytotypes of the onchocerciasis vector *Simulium exiguum* (Diptera: Simuliidae) in Ecuador. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 88: 39-48.

Charalambous, M., A.J. Shelley and M. Arzube. 1993b. Distribution and taxonomic studies of chromosomal forms of the onchocerciasis vector *Simulium exiguum* in central Ecuador. *Med. Vet. Ent.* 7: 299-303.

Charalambous, M., A.J. Shelley, M.M. Herzog and A.P. Dias. 1996. Four new cytotypes of the onchocerciasis vector blackfly *Simulium guianense* in Brazil. *Med. Vet. Ent.* 10: 111-120.

Chutter, F.M. 1968. Hydrobiological studies on the Voal River in the Vereeniging area. Pt 1. Introduction, water chemistry, and biological studies on the fuana of habitats other than muddy bottom sediments. *Hydrobiologia* 21: 1-65.

Colbo, M.H. 1976. Four new species of *Simulium* Latreille (Diptera: Simuliidae) from Australia. *J. Aus. Ent. Soc.* 15: 253-269.

Conn, J. 1990. Chromosome key to the larvae of the *Simulium metallicum* complex (Diptera: Simuliidae) from Latin America. *J. Med. Ent.* 27: 459-466.

Conn, J., K.H. Rothfels, W.S. Procunier and H. Hirai. 1989. The *Simulium metallicum* species complex (Diptera: Simuliidae) in Latin America: A cytological study. *Can. J. Zool.* 67: 1217-1245.

Crosskey, R.W. 1960. A taxonomic study of the larvae of West African Simuliidae (Diptera: Simuliidae) with comments on the morphology of the larval black-fly head. *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Ent.)* 10: 1-74.

Crosskey, R.W. 1973. Family Simuliidae. *In* M.D. Delfinado and D.E. Hardy (eds.), A Catalog of the Diptera of the Oriental Region, pp. 423-430. University Press of Hawaii, Honolulu.

Crosskey, R.W. 1981a. Geographical distribution of Simuliidae. *In* E.M. Laird (ed.), Blackflies, the Future for Biological Methods in Integrated Control, pp. 57-73. Academic Press, London.

Crosskey, R.W. 1981b. Simuliid taxonomy–the contemporary. *In* E.M. Laird (ed.), Blackflies, the Future for Biological Methods in Integrated Control, pp. 3-18. Academic Press, London.

Crosskey, R.W. 1990. The natural history of blackflies. John Wiley, Chichester.

Crosskey, R.W. 1993. Blackflies (Simuliidae). *In* R.P. Lane and R.W. Crosskey (eds.), Medical Insects and Arachnids, pp. 241-287. Chapman and Hall, New York.

Dalmat, H.T. 1955. The black flies (Diptera: Simuliidae) of Guatemala and their roles as vectors of onchocerciasis. *Smithson. Misc. Collins* 125: 1-425.

Datta, M. 1973. New species of black flies (Diptera: Simuliidae) of the subgenera *Eusimulium* Roubaud and *Gomphostilbia* Enderlein from the Darjeeling area, India. *Oriental Insects* 7: 363-402.

Datta, M. 1974a. Some black flies (Diptera: Simuliidae) of the subgenus *Simulium* Latreille (s.str.) from the Darjeeling area, India. *Oriental Insects* 8: 15-27.

Datta, M. 1974b. New species black flies (Diptera: Simuliidae) from the Darjeeling area, India. *Oriental Insects* 8: 457-468.

Davies, L. 1968. A key to the British species of Simuliidae (Diptera) in the larval, pupal and adult stages. *Freshwater Biological Association, Scientific Publication* 24: 1-126.

Davies, J.B. and R.W. Crosskey. 1991. Simulium-vectors of onchocerciasis. *WHO/VBC/91.992.*

Davies, D.M. and H. GyÖrkÖs. 1987. The Simuliidae (Diptera) of Sri Lanka. Description of a new species of *Simulium* (*Byssodon*). *Can. J. Zool.* 66: 2150-2154.

Dunbar, R.W. 1976. The East African situation and review of the *Simulium damnosum* complex as a whole. *WHO/VBC/SC/76.20.* Mimeogr. Doc.

Dunbar, R.W and C.G. Vajime. 1971. Cytotaxonomic analysis of the *Simulium damnosum* complex. *WHO/ONCHO/71.87, WHO/VBC/71.320.* Mimeogr.Doc.

Dunbar, R.W. and C.G. Vajime. 1972. The *Simulium* (*Edwardsellum*) *damnosum* complex. A report on cytotaxonomic studies to April 1972 *WHO/VBC/SC/72.100*. Mimeogr. Doc.

Edwards, F.W. 1928. Diptera Nematocera from the Federated Malay States Museums. *J. Fed. Malay States Mus.* 14: 1-139.

Fiasorgor, G.K. and R.A. Cheke. 1992. Cytotaxonomic confirmation of two forms of *Simulium sirbanum* in the eastern part of the Onchocerciasis Control Programme in West Africa. *Med. Vet. Ent.* 6: 139-142.

Fredeen, F.J.H. 1969. Outbreaks of the black fly *Simulium arcticum* Malloch in Alberta. *Quaest. Ent.* 5: 341-372.

Freeman, P. and B. de Meillon. 1953. Simuliidae of the Ethiopian region. British Museum (Natural History), London.

Gordon, A.E. and E.W. Cupp. 1980. The limnological factors associated with cytotype of *the Simulium venustum/verecundum* complex (Diptera: Simuliidae) in New York State. *Can. J. Zool.* 58: 973-981.

Grunewald, J. 1976. The hydro-chemical and physical condition of the environment of the immature stages of some species of the *Simulium* (*Edwardsellum*) *damnosum* complex (Diptera). *Tropenmed. Parasitol.* 27: 438-454.

Hadi, U.K., H. Takaoka, K. Kondo and H. Hirai. 1996. Larval salivary gland chromosomes of the blackfly, *Simulium* (*Gomphostilbia*) *sundaicum* (Diptera: Simuliidae) from Java, Indonesia. *Med. Ent. Zool.* 47: 55-61.

Hirai, H., W.S. Procunier, J.O. Ochoa and K. Uemoto. 1994. A cytogenetic analysis of the *Simulium ochraceum* species complex (Diptera: Simuliidae) in Central America. *Genome* 37: 36-53.

John, B. 1981. Heterochromatin variation in natural populations. *Chromosome Today* 7: 128-137.

Kettle, D.S. 1990. Medical and Veterinary Entomology. CAP International UK.

Kuvangkadilok, C. and H. Takaoka. 2000. Taxonomic notes on Simuliidae (Diptera) from Thailand: Description of a new species and new species distributional records of nine known species. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 28: 167-175.

Kuvangkadilok, C., C. Boonkemtong and S. Phayuhasena. 1998. C-banding in polytene chromosomes of six *Simulium* species (Diptera: Simuliidae) from Doi Inthanon National Park, northern Thailand. *J. Sci. Soc. Thailand* 24: 215-230.

Kuvangkadilok, C., C. Boonkemtong and S. Phayuhasena. 1999a. Distribution of the larvae of blackflies (Diptera: Simuliidae) at Doi Inthanon National Park, northern Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth.* 30: 328-337.

Kuvangkadilok, C., S. Phayuhasena and C. Boonkemtong. 1999b. Larval polytene chromosomes of five *Simulium* species (Diptera: Simuliidae) from Doi Inthanon National Park, northern Thailand. *Cytologia* 64: 197-207.

Kuvangkadilok, C., S. Phayuhasena and V. Baimai. 1999c. Population cytogenetic studies on *Simulium feuerborni* Edwards (Diptera: Simuliidae) from northern Thailand. *Genome* 42: 80-86.

Lacey, L.A. and A.H. Undeen. 1988. The biological control potential of pathogens and parasites of black flies. *In* Kim and Merritt (eds.), pp. 327-340.

Landau, R. 1962. Four form of *Simulium tuberosum* (Lundstr.) in southern Ontario: a salivary gland chromosome study. *Can. J. Zool.* 40: 921-939.

Lentzios, G., A.J. Stocker and J. Martin. 1980. C-banding and chromosome evolution in some related species of Australian chironominae. *Genetica* 54: 51-68.

Lewis, D.J. and J.N. Raybould. 1974. The subgenus *Lewisellum* of *Simulium* in Tanzania (Diptera: Simuliidae). *Revue Zool. Afr.* 88: 225-240.

Macgregor, H.C., H. Horner, C.A. Owen and J. Parker. 1973. Observations on centromeric heterochromatin and satellite DNA in salamanders of the genus *Plethodon*. *Chromosoma* 43: 329-348.

Maegga, B.T.A. and E.W. Cupp. 1993. Chromosomal diagnostic criteria for some members of *Simulium damnosum* complex in East Africa. *Trop. Med. Parasitol.* 44: 165-171.

Maegga, B.T.A. and E.W. Cupp. 1994. Cytotaxonomy of the *Simulium damnosum* complex and description of new cytotypes in the Tukuyu focus, southeast Tanzania. *Trop. Med. Parasitol.* 45: 125-129.

Mafuyai, H.B., R.J. Post, C.G. Vajime and D.H. Molyneux. 1996. Cytotaxonomic identification of *the Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae) from Nigeria. *Trop. Med. Int. Health* 1: 779-785.

Merritt, R.W., D.H. Ross and B.V. Peterson. 1978. Larval ecology of some lower Michigan black flies (Diptera: Simuliidae) with keys to the immature stages. *Great Lakes Entomologist* 11: 177-208.

Millest, A.L. 1992. Identification of members of the *Simulium ochraceum* complex in the three onchocerciasis foci in Mexico. *Med. Vet. Ent.* 6: 23-28.

Millest, A.L., R.A. Cheke and R. Greenwood. 1999. Distribution of the *Simulium metallicum* complex in Mexico in relation to selected environmental variables. *Med. Vet. Ent.* 13: 139-149.

Mohsen, Z.H. and M.S. Mulla. 1982. The ecology of black flies (Diptera: Simuliidae) in some southern California streams. *J. Med. Ent.* 19: 72-85.

Motara, M.A. and K.S. Rai. 1978. Giemsa C-banding patterns in *Aedes* (*Stegomyia*) mosquitoes. *Chromosoma* 70: 51-58.

Newton, M.E., D.I. Southern and R.J. Wood. 1974. X and Y chromosomes of *Aedes aegypti* (L.) distinguished by Giemsa C-banding. *Chromosoma* 49: 41-49.

Peacock, W.J., R. Appels, P. Dunsmuir, A.R. Lohe and W.L. Gerlach. 1977. Highly repeated DNA sequences: Chromosomal localization and evolutionary conservatism. *In* B.R. Brinkley and K.R. Porter (eds.), International Cell Biology, pp. 494-506. Rockefeller University Press, New York.

Peterson, B.V. 1984. Simuliidae. *In* R.W. Merritt and K.W. Cummins (eds.), An Introduction to the Aquatic Insects of North America, pp. 534-550. Kenda/Hunt Publishers, Dubuque, Iowa.

Porter, D.L. and J. Martin. 1977. The cytology of *Polypedilum nubifer* (Diptera: Simuliidae). *Caryologia* 30: 41-62.

Procunier, W.S. 1975. A cytological study of two closely related blackfly species *Cnephia dacotensis* and *Cnephia ornithophilia* (Diptera: Simuliidae). Can. J. Zool. 53: 1622-1637.

Procunier, W.S. and A.I. Muro. 1994. Cytotaxonomy of the *Simulium damnosum* complex from central and northeastern Tanzania. *Genome* 36: 112-130.

Puri, I.M. 1932a. Studies on Indian Simuliidae. Part IV. Description of two new species from north-east India *Simulium howletti* sp.n.and *Simulium hirtipannus* sp.n., with a note on *S. ornatum* Meigen. *Indian J. Med. Res.* 20: 505-514.

Puri, I.M. 1932b. Studies on Indian Simuliidae. Part V. Species and varieties of the *striatum* series. *Indian J. Med. Res.* 19: 899-915.

Puri, I.M. 1933a. Studies on Indian Simuliidae. Part VI. Descriptions of males, females and pupae of two new species from Palni Hill and of male and pupa of *S. tenuitaesus* sp.n. from Bengal Terai. *Indian J. Med. Res.* 20: 803-812.

Puri, I.M. 1933b. Studies on Indian Simuliidae. Part VII. Descriptions of larva, pupa and female of *Simulium damnosum* sp.nov., with *S. novolineatum* nov.nom. (=*S. lineatum* Puri). *Indian J. Med. Res.* 20: 813-817.

Puri, I.M. 1933c. Studies on Indian Simuliidae. Part VIII. Descriptions of larvae, pupae, males and females of *S. aureohirtum* Brunetti and *S. aureum* Fries. *Indian J. Med. Res.* 21: 1-9.

Ross, D.H., and R.W. Merritt. 1978. The larval instars and population dynamics of five species of black flies (Diptera: Simuliidae) and their responses to selected environmental factors. *Can. J. Zool.* 56: 1633-1642.

Rothfels, K.H. 1979. Cytotaxonomy of black flies (Simuliidae). *Ann. Rev. Ent.* 24: 507-539.

Rothfels, K.H. 1981. Cytotaxonomy: Principles and their application to some northern species-complexes in *Simulium. In* E.M. Laird (ed.), Blackflies, the Future for Biological Method in Integrated Control, pp. 19-29. Academic Press, London.

Rothfels, K.H. and M. Freeman. 1977. The salivary gland chromosomes of seven species of *Prosimulium* (Diptera: Simuliidae) in the *mixtum* (IIIL-1) group. *Can. J. Zool.* 55: 482-507.

Rothfels, K.H. and D.W. Featherston. 1981 The population structure of *Simulium vittatum* (Zett): the IIIL-1 and IS-7 sibling species. *Can. J. Zool.* 51: 1857-1883.

Rothfels, K.H., R. Feraday and A. Kaneps. 1978. A cytological description of sibling species of *Simulium venustum* and *S. verecundum* with standard maps for the subgenus *Simulium* Davies. *Can. J. Zool.* 56: 1110-1128.

Ruttner, F. 1926. Benmerkungen über den Sauerstoffgehalt der Gewässer und dessen respiratorischen Wert. *Naturwissenschaften* 14: 1237-1239.

Shelley, A.J. 1988. Biosystematics and medical importance of the *Simulium amazonicum* group and the *S. exiguum* complex in Latin America. *In* M. Service (ed.), Biosystematics of Haematophagus Insects, pp. 203-220. Clarendon Press, Oxford.

Subbarao, S.K., K. Vasantha, T. Adak and V.P. Shama. 1983. *Anopheles culicifacies* complex: evidence for a new sibling species, species C. *Ann. Ent. Soc. Amer*. 76: 985-988.

Summer, S.L.M. 1911. Notes from the Entomological Department of Department of the London School of Tropical Medicine. No. II. Description of a new species of *Simulium* from the Siamese hills. *Ann. Mag. Nat. Hist.* 8: 586-588.

Takaoka, H. 1972. A new species of Simuliidae from Yonakuni Island, Ryukyu Islands, Japan (Diptera: imuliidae). *J. Med. Ent.* 9: 521-523.

Takaoka, H. 1977. Studies on black flies of the Namsei Islands, Japan (Simuliidae: Diptera) III. In six species of the subgenus *Simulium* Latreille. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 28: 193-217.

Takaoka, H. 1979. The black flies of Taiwan (Diptera: Simuliidae). *Proc. Insects* 20: 365-403.

Takaoka, H. 1994. A new blackfly species of *Simulium* (*Gomphostilbia*) from Solomon Islands, South Pacific (Diptera: Simuliidae). *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 22: 103-108.

Takaoka, H. 1995. The Simuliidae (Diptera) from the Baugainville Island, Papua New Guinea. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 23: 253-266.

Takaoka, H. 1996. The geographical distribution of the genus *Simulium* Latreille in the Oriental and Australasian regions. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 24: 113-124.

Takaoka, H. and P.H. Adler. 1997. A new subgenus, *Simulium* (*Daviesellum*), and a new species, *S.* (*D.*) *courtneyi*, (Diptera: Simuliidae) from Thailand and Peninsular Malaysia. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 25: 17-27.

Takaoka, H. and D.M. Davies. 1995. The black flies (Diptera: Simuliidae) of West Malaysia. Kyushu University Press, Fukuoka.

Takaoka, H. and D.M. Davies. 1996. The black flies (Diptera: Simuliidae) of Java, Indonesia. Bishop Museum Press, Honolulu USA.

Takaoka, H. and D.M. Davies. 1997. *Simulium* (*Simulium*) *yougi* sp.nov. (Diptera: Simuliidae) from Peninsular Malaysia. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 25: 11-16.

Takaoka, H. and U.K. Hadi. 1991. Two new blackfly species of *Simulium* (*Simulium*) from Java, Indonesia (Diptera: Simuliidae). *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 19: 357-370.

Takaoka, H. and C. Kuvangkadilok. 1999. Four new species of black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 27: 497-509.

Takaoka, H. and D.M. Roberts. 1988. Notes on blackflies (Diptera: Simuliidae) from Sulawesi, Indonesia. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 16: 191-219.

Takaoka, H. and K. Saito. 1996. A new species and new records of black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 24: 163-169.

Takaoka, H., H. Saito and H. Suzuki. 1999. *Simulium* (*Nevermannia*) *bonninense* from the Ogasawana (Bonin) Islands, Japan (Diptera: Simuliidae): Taxonomic assignment to the vernum-group and descriptions of male, pupa and mature larva. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 27: 189-194.

Takaoka, H. and S.H. Sigit. 1992. A new black fly species of *Simulium* (*Gomphostilbia*) from Java, Indonesia (Diptera: Simuliidae). *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 20: 135-142.

Takaoka, H. and S.H. Sigit. 1997. Three new black fly species of Simulium (Diptera: Simuliidae) from Sumatra, Indonesia. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 25: 69-80.

Takaoka, H. and H. Suzuki. 1984. The blackflies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 35: 7-45.

Ulfstrand, S. 1967. Microdistribution of benthic species (Ephemeroptera, Placopter, Trichoptera, Diptera: Simuliidae) in Lapland streams. *Oikos* 18: 293-310.

Vajime, C.G. 1989. Cytotaxonomy of Sirba form populations of the *Simulium damnosum* complex in West Africa: amendments to sex chromosomes and sibling status. *Trop. Med. Parasitol.* 40: 464-467.

Vajime, C.G. and R.W. Dunbar. 1975. Chromosomal identification of eight species of the subgenus *Edwardsellum* near and including *Simulium* (*Edwardsellum*) *damnosum* Theobald (Diptera: Simuliidae). *Tropenmed. Parasitol.* 26: 111-138.

Vajime, C.G., P.A. Tombala, A. Kruger and R.J. Post. 2000. The cytotaxonomy of *Simulium damnosum* s.l.(Diptera: Simuliidae) from the Thyolo onchocerciasis focus in Malawi and description of a new member of the complex. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 94: 279-290.

Weimarck, A. 1975. Heterochromatin polymorphism in rye karyotype as detected by the Giemsa C-banding technique. *Hereditas* 79: 293-300.

Yosida, T.H. and T. Sagai. 1975. Variation of C-bands in several subspecies of *Rattus rattus*. *Chromosoma* 50: 283-300.

# ความหลากหลายของจีโนไทป์ของผึ้งโพรงในประเทศไทย ซึ่งแสดงโดยพอลิมอร์ฟิซึมของดีเอ็นเอ

ศิริพร สิทธิประณีต[1], นภา ศิวรังสรรค์[1], กนกทิพย์ ภักดีบำรุง[1] และสิริวัฒน์ วงษ์ศิริ[2]

[1]หน่วยปฏิบัติการวิจัยพันธุวิศวกรรม ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[2]หน่วยปฏิบัติการวิจัยผึ้ง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

**Abstract: Genotypic Diversity of *Apis cerana* in Thailand Revealed by DNA Polymorphism**

Genetic variability and population structure of the Thai honeybee *Apis cerana* were investigated using 1) PCR – RFLP of mtDNA regions (ssRNA gene, lrRNA gene, intergenic COI - COII region and ATPase6 – ATPase8 genes) 2) variation of microsatellite DNA 3) sequences of the mitochondrial lrRNA gene. Samples used for PCR-RFLP and microsatellite analysis were taken from 172-257 colonies covering six geographic locations: 1) north 2) north – east 3) central 4) south 5) Samui Island and 6) Phuket Island. Two, four and seven haplotypes were obtained from *Dra*I digestion of the PCR – amplified 410 bp ssRNA gene, the 755 bp lrRNA gene and the 1710 bp intergenic COI - COII region, respectively. These three mtDNA regions generated twelve composite haplotypes. Genetic distance among populations was then calculated and used for phylogenetic reconstruction using the UPGMA approach. Two genetically distinctive groups, a northern (north, north – east and central) and a southern (south, Samui Island and Phuket Island) *A. cerana*, were clearly separated. Results from population structure analysis showed three distinctive groups where the Samui *A. cerana* could be further separated from the south, A. cerana. PCR – RFLP analysis of amplified 825 bp ATPase6 – ATPase8 mtDNA genes digested with three restriction endonucleases (*Taq*I, *Ssp*I and *Vsp*I) revealed 2, 4 and 4 haplotypes, respectively. Eight complosite haplotypes were then generated. Only haplotype C from *Vsp*I digestion was a population specific genotype for the Samui *A. cerana*. A UPGMA phenogram based on genetic distance among populations clearly allocated Thai *A. cerana* samples into 2 distinct groups: northern (north, north-east and central) and southern (south and Samui Island). Population structure analysis showed 3 different groups in which the Samui *A. cerana* could be further separated from the south. Thirty – nine percent of investigated samples showed heteroplasmy of both ATPase 6 – ATPase 8 genes. It should be note that heteroplasmic samples were collected only from the south (83%) and Samui Island (60%). This evidence indicated that northern and southern *A. cerana* are evolutionary different lineages. Microsatellite DNA analysis was performed using 13 *A. mellifera* microsatellite loci. Three microsatellite loci (A28, A107 and A113) were shown to be polymorphic with the number of alleles at each locus being 24, 10 and 3 alleles, respectively. The average heterozygosity per locus was 0.18-0.46. The analysis of geographic heterogeneity and phylogenetic reconstruction using UPGMA approach divided Thai bee samples in to 2 genetically distinct groups: northern and southern. Population structure study showed 4 different groups consisting of 1) northern (north and central), 2) north – east, 3) south, and 4) Samui Island. Individuals previously analyzed and in which 4 lrRNA – *Dra*I genotypes were detected were sequenced after amplification. After alignment of all sequences, an AT bias was found at 84.47% genetic distance calculated from DNA sequence data that had been subjected to the UPGMA approach. The sequence analysis was corrected with the results from PCR – RFLP.

**Key words:** *Apis cerana*, PCR-RFLP, honey bee, genetic diversity, polymorphism

## บทนำ

ผึ้งเป็นแมลงที่มีประโยชน์ต่อมวลมนุษย์มาก ช่วยผสมเกสรดอกไม้ขณะที่เก็บอาหาร ทำให้ผลผลิตของพืชเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังให้ผลิตภัณฑ์ที่นำมาใช้ประโยชน์ทั้งในด้าน อาหาร ยา เครื่องสำอาง และเครื่องอุปโภค ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ของผึ้งมีมูลค่าสูง เช่น นมผึ้ง (Royal jelly) น้ำผึ้ง เกสร (bee pollen) พรอพอรีส (propolis) และไขผึ้ง (bee wax) จึงมีการเลี้ยงผึ้งในระดับอุตสาหกรรมขึ้นในหลายๆ ประเทศรวมทั้งประเทศไทย สถิติการส่งออกน้ำผึ้งเริ่มตั้งแต่ 0.012 ตัน ในปี พ.ศ. 2523 จนถึง 2,000 ตัน ในปี พ.ศ. 2535 เป็นต้นมา ผลิตภัณฑ์ในรูปนมผึ้งมีราคาสูงถึงกิโลกรัมละ 2,000-3,000 บาท คนญี่ปุ่นนิยมบริโภคกันมาก แต่ผลิตไม่เพียงพอ ต้องนำเข้าปีละหลายร้อยตันจากหลายๆ ประเทศ มีการนำเข้าจากประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2528 จำนวน 2,034 กิโลกรัม และเพิ่มเป็น 9,438 กิโลกรัม ในปี พ.ศ. 2535 แต่การนำเข้าจาก

ประเทศจีนจะสูงกว่าของประเทศไทยถึง 25 เท่า โดยมีปริมาณ 256,314 กิโลกรัม ในปี 2535 จากข้อมูลเหล่านี้แสดงว่าอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้งยังมีโอกาสขยายตัวได้อีกมาก จึงควรมีการส่งเสริมให้มีการเลี้ยงผึ้งเพิ่มมากขึ้น

## ชีววิทยาของผึ้ง

ผึ้งเป็นแมลงที่จัดอยู่ใน Kingdom Metazoa, Phylum Arthropoda, Class Insecta, Order Hymenoptera, Family Apidea, Genus *Apis* เป็นแมลงสังคมแท้ชั้นสูง (advanced eusocial insects) อยู่รวมเป็นกลุ่มภายในรัง (colony) ประกอบด้วย 3 วรรณะ คือ ผึ้งนางพญา (queen) ผึ้งงาน (workers) และผึ้งตัวผู้ (drones) มีการแบ่งหน้าที่การทำงานอย่างเป็นระเบียบ ผึ้งนางพญาเป็นผึ้งเพศเมีย มีโครโมโซมเป็น diploid (2n) มีเพียง 1 ตัว ใน 1 รัง ทำหน้าที่ควบคุมรังและผสมพันธุ์เพื่อวางไข่ เพิ่มประชากรในรังผึ้งนั้นๆ ผึ้งงานเป็นผึ้งเพศเมีย มีโครโมโซมแบบ diploid (2n) แต่อวัยวะสืบพันธุ์ไม่สมบูรณ์จึงไม่สามารถผสมพันธุ์และวางไข่ได้ มีหน้าที่แตกต่างกันไปตามช่วงอายุ ได้แก่ เลี้ยงตัวอ่อน ปัดกวาดรัง หาน้ำผึ้ง และเกสรดอกไม้ และสร้างรัง เป็นต้น ผึ้งงานมีจำนวนมากที่สุดอาจมีจำนวนสูงถึง 50,000 ตัว ส่วนผึ้งตัวผู้มีโครโมโซมเป็นแบบ haploid เกิดมาจากไข่ที่ได้รับการผสมของผึ้งนางพญา พบในรังช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน มีจำนวนเพียง 200-300 ตัว มีหน้าที่ผสมพันธุ์กับผึ้งนางพญาโดยเกิดขึ้นในขณะที่บิน (mating flight) หลังผสมพันธุ์จะเสียชีวิตทันที ในช่วงที่มีอาหารน้อยลงซึ่งส่วนใหญ่เป็นช่วงฤดูหนาวผึ้งตัวผู้จะถูกกำจัดทิ้งจากรังโดยผึ้งงาน

ผึ้งที่พบจากทุกแหล่งในโลกมีทั้งหมด 9 สปีชีส์ ได้แก่ 1) ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera)* 2) ผึ้งโพรง (*Apis cerana)* 3) ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) 4) ผึ้งมิ้มเล็ก (*Apis andreniformis*) 5) ผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) 6) ผึ้งภูเขา (*Apis laboriosa*) 7) *Apis koschevnikovi* 8) *Apis nigrocincta* และ 9) *Apis nuluensis* สำหรับประเทศไทยพบผึ้ง 5 สปีชีส์ คือ ผึ้งโพรง ผึ้งหลวง ผึ้งมิ้ม ผึ้งมิ้มเล็ก และผึ้งพันธุ์ โดย 4 ชนิดแรกเป็นผึ้งพื้นเมืองของประเทศไทย ผึ้งหลวง มิ้ม และมิ้มเล็ก เป็นผึ้งป่าอาศัยตามธรรมชาติไม่มีการนำมาเลี้ยงเพราะดุร้าย ย้ายรังหนีง่าย ต้องการสภาพเป็นอยู่ที่จำเพาะ เช่น อาศัยตามต้นไม้หรือหน้าผาที่สูงมาก ส่วนผึ้งโพรงนั้นมีการเลี้ยงตามท้องถิ่นต่างๆ กันมาช้านานมากกว่า 100 ปี สำหรับผึ้งพันธุ์ในประเทศไทยนั้นเป็นผึ้งพื้นเมืองของยุโรปซึ่งนำเข้ามาเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้ง เนื่องจากผึ้งพันธุ์นี้มีผู้ศึกษาชีววิทยาด้านต่างๆ ไว้มาก ทั้งด้านพฤติกรรม สรีวิทยา พันธุกรรม และวิวัฒนาการ มีการพัฒนาสายพันธุ์ถึงระดับที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงในหีบเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรม

## การเลี้ยงผึ้งในประเทศไทย

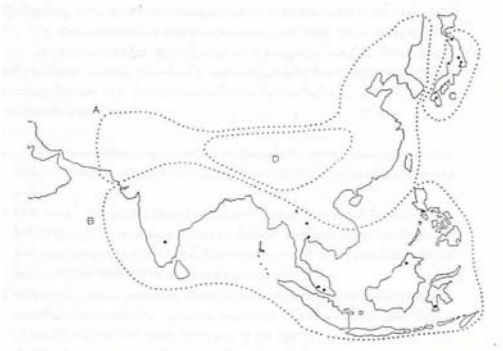
การเลี้ยงผึ้งตามท้องถิ่นต่างๆ ของประเทศไทยมีมาช้านานมากกว่า 100 ปี ในรังแบบแผ่นติด (fix comb) โดยล่อให้ผึ้งเข้าไปทำรังในหีบหรือท่อที่ไม่มีคอนสำหรับเคลื่อนย้าย การเลี้ยงในลักษณะนี้ผึ้งตัวอ่อนมักถูกฆ่าเมื่อผู้เลี้ยงเก็บน้ำผึ้ง และไม่สามารถดูแลจัดการเกี่ยวกับรัง เช่น การเปลี่ยนนางพญา เป็นต้น ด้วยเหตุที่ขาดการศึกษาเกี่ยวกับสายพันธุ์ การรวบรวมพันธุ์ การคัดพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ รวมถึงขาดการศึกษาเกี่ยวกับขนาดของหีบและคอนที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงผึ้งโพรง จึงทำให้ได้ผลิตผลต่ำ ผึ้งทิ้งรัง (abcond) หรือแยกรังบ่อยเกินไป (แสนนัด, 2531) การเลี้ยงผึ้งโพรงในประเทศจีนประสบความสำเร็จมาก มีการคัดพันธุ์ที่ดี สถิติในปี พ.ศ. 2530 มีผู้เลี้ยงผึ้งโพรงถึง 300,000 รัง ให้น้ำผึ้งถึง 12,000 ตันต่อปี (Wongsiri and Tangkanasing, 1987) ซึ่งเลี้ยงโดยใช้หีบไม้ที่มีคอนแบบยกเข้าออกได้เช่นเดียวกับการเลี้ยงผึ้งพันธุ์ นอกจากประเทศจีนแล้วยังมีอีกหลายประเทศที่เลี้ยงผึ้งโพรงในลักษณะอุตสาหกรรม ได้แก่ อินเดีย และปากีสถาน เป็นต้น (แสนนัด, 2531) ผึ้งพันธุ์ได้รับการพัฒนาสายพันธุ์ให้เหมาะสมในการเลี้ยงในหีบเลี้ยง มีความสามารถในการเก็บน้ำผึ้งได้ในปริมาณสูง มีขนาดรังเหมาะสมในการประยุกต์เลี้ยงในหีบ พฤติกรรมไม่ดุร้าย ไม่ทิ้งรังง่าย ดังนั้นจึงพบว่าการเลี้ยงขยายตัวอย่างรวดเร็วในประเทศไทย (Wongsiri et al.,1989) แต่การเลี้ยงมักเกิดปัญหาที่สำคัญ คือ ผึ้งพันธุ์ไม่สามารถทนทานและไม่สามารถกำจัดไร (mite) ศัตรูผึ้งได้ ไรที่เป็นปัญหา ได้แก่ ไรวาร์รัว (*Varroa jacobsoni*) และไรทรอพิลาแลปส์ (*Tropilarlaps clareae*) ซึ่งทำให้ผึ้งอ่อนแอ ตัวอ่อนของผึ้งตายหรือพิการ เป็นเหตุให้ผลผลิตและการขยายพันธุ์ต่ำลง ผึ้งโพรงมีข้อดีหลายประการเมื่อเทียบกับผึ้งพันธุ์ เช่น พฤติกรรมการทำความสะอาดระหว่างผึ้งงานด้วยกัน (grooming behavior) โดนการปัดและกัดไรที่เกาะอยู่บนตัวผึ้ง

ให้แก่กัน นอกจากนั้นทำความสะอาดรัง โดยนำไรออกไปทิ้งนอกรัง (removal behavior) จึงสามารถลดการระบาดของไรในผึ้งโพรงได้ (สิริวัฒน์, 2532) การเลี้ยงมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าเพราะไม่ต้องสั่งจากต่างประเทศ

ในปัจจุบันพื้นที่ป่าลดลงอย่างมาก มีการบุกรุกเพื่อทำเป็นที่ทำกิน เป็นเหตุให้แหล่งอาหารของผึ้งลดลงมาก นอกจากนั้นยังมีพฤติกรรมการเก็บน้ำผึ้งโดยการเผารัง การบริโภคตัวอ่อนของผึ้ง สาเหตุเหล่านี้ทำให้ผึ้งลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจนำไปสู่การสูญพันธุ์ของผึ้งพื้นเมืองในประเทศไทย การส่งเสริมให้มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของผึ้งสปีชีส์ต่างๆ ในประเทศไทยเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์สายพันธุ์ คัดสายพันธุ์ และปรับปรุงพันธุ์ จึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งในปัจจุบัน

**ผึ้งโพรง *(Apis cerana)***

ผึ้งโพรงเป็นผึ้งที่พบทั่วไปในแถบเอเชีย สร้างรังอยู่ตามโพรง พบในที่ต่างๆ รวมทั้งต้นไม้ ก้อนหิน บ้านเรือน และโอ่ง เป็นต้น จากการศึกษาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน (morphometrics) พฤติกรรมและการแพร่กระจาย Ruttner (1988) แบ่งผึ้งโพรงออกเป็น 4 ซับสปีชีส์ ได้แก่ ผึ้งโพรงจีน (*Apis cerana cerana*) พบแพร่กระจายอยู่ทางตอนเหนือของเอเชีย ผึ้งโพรงญี่ปุ่น (*Apis cerana japonica*) พบในแถบประเทศญี่ปุ่น ผึ้งโพรงอินเดีย (*Apis cerana indica*) พบแพร่กระจายอยู่แถบเอเชียใต้ และผึ้งโพรงหิมาลัย (*Apis cerana himalaya*) ซึ่งพบอยู่ในบริเวณเทือกเขาหิมาลัย แผนผังแสดงแหล่งแพร่กระจายของผึ้งทั้ง 4 ซับสปีชีส์ แสดงไว้ในภาพที่ 1



ภาพที่ 1. แสดงการแพร่กระจายของผึ้งโพรง 4 ซับสปีชีส์ ในประเทศไทย A = *A. cerana cerana;* B = *A. cerana indica;* C = *A. cerana japonica*; D = *A. cerana himalaya* (ภาพจาก Diversity in the Genus *Apis* (1991 ) Smith, D.R. (eds). Westview Press. pp. 155)

**หลักการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตในสปีชีส์เดียวกัน (Intraspecific Studies)**

ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นข้อมูลสำคัญที่นำมาใช้จำแนกกลุ่มประชากร (population) วัดความแปรปรวนทางพันธุกรรม รวมถึงการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการอีกด้วย การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมทำได้หลายวิธีด้วยกัน คือ

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐาน (morphometrics) การแพร่กระจาย และพฤติกรรม

การศึกษานี้ต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญสูง และมีสิ่งต้องพึงระวัง คือ ลักษณะที่แสดงออกภายนอก (phenotype) สามารถแปรเปลี่ยนไปตามสภาวะแวดล้อมได้ ดังนั้นจึงไม่เป็นที่นิยมในปัจจุบันสำหรับการศึกษาในผึ้ง (Smith and Brown, 1988)

2. การศึกษาความแตกต่าง (polymorphism) ในระดับโมเลกุลของโปรตีน

โปรตีนที่ศึกษามักเป็นเอมไซม์ซึ่งผลิตจากต่างอัลลีล (allele) ในตำแหน่ง (locus) เดียวกันที่เรียกว่า อัลโลไซม์ (allozyme) โดยแยกความแตกต่างโมเลกุลของเอมไซม์เหล่านี้ด้วยการใช้อิเลคโทรโพริซิส (electrophoresis) แล้วจึงตรวจหาตำแหน่งของแถบโปรตีนด้วยการย้อมสีตามสมบัติของแอคติวิตี (activity stain) ของอัลโลไซม์นั้นๆ การใช้ความแตกต่างของอัลโลไซม์ (allozyme polymorphism) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมนี้ ถึงแม้จะทำได้ค่อนข้างง่าย รวดเร็ว และไม่สิ้นเปลือง แต่มีข้อควรระวังเกี่ยวกับจำนวนตำแหน่ง จำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง (allele per locus) และจำนวนตัวอย่าง (specimen) ที่ใช้ในการวิเคราะห์ต้องมีจำนวนมากพอที่จะให้ผลถูกต้อง โดยทั่วไปความแตกต่างในระดับโมเลกุลของโปรตีนจะต่ำกว่าระดับของโมเลกุลดีเอ็นเอซึ่งเป็นสารพันธุกรรมอยู่มาก ดังนั้นในสิ่งมีชีวิตที่มีระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในสปีชีส์ค่อนข้างต่ำอาจไม่สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างในระดับอัลโลไซม์ได้ สำหรับผึ้งซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตแบบ Haplo-diploid population จะมีความแตกต่างของอัลโลไซม์น้อยกว่า diploid population โดยเฉพาะในระดับซับสปีชีส์ (subspecies) จึงไม่เป็นที่นิยมใช้ศึกษา (Smith and Brown, 1988)

3. การศึกษาความแตกต่างในระดับโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA polymorphism)

เทคนิคที่นำมาใช้วิเคราะห์ความแตกต่างในระดับโมเลกุลของดีเอ็นเอ เป็นเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมเป็นส่วนใหญ่ แบ่งได้เป็น 2 ยุค ยุคแรกเริ่มโดยใช้การโคลนดีเอ็นเอ (DNA cloning) บริเวณที่ต้องการศึกษา จากนั้นจึงวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอชิ้นที่โคลนได้ หรือใช้ชิ้นดีเอ็นเอที่โคลนได้เป็นชิ้นดีเอ็นเอติดตาม (probe) ศึกษาส่วนของดีเอ็นเอที่เป็นสายคู่สม (complementary strand) กับดีเอ็นเอติดตาม โดยใช้เทคนิคการไฮบริไดซ์ระหว่างโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA-DNA hybridization) ในยุคที่สอง ซึ่งเริ่มจากการค้นพบ *Taq* DNA polymerase ที่ทนความร้อนได้สูง จึงทำให้สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณจำเพาะหนึ่งๆ ในหลอดทดลองได้ด้วย PCR (Polymerase chain reaction) โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) จำเพาะ 1 คู่ ที่ขนาบสองข้างของบริเวณที่สนใจนั้นๆ เทคนิคนี้มีบทบาทสำคัญที่ทำให้การศึกษาความแตกต่างของดีเอ็นเอทำได้ง่ายขึ้น ใช้ปริมาณตัวอย่าง (specimen) เพียงเล็กน้อยก็เพียงพอสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองได้ ทำให้ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น ไร และยุง ได้จากตัวอย่างเพียงตัวเดียว ปัจจุบันนี้การศึกษาความแตกต่างของดีเอ็นเอเริ่มด้วยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณที่สนใจในหลอดทดลองด้วย PCR ติดตามด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบสของผลิตภัณฑ์ PCR (PCR products) นั้นๆ หรือประเมินความแตกต่างของลำดับเบสโดยเปรียบเทียบขนาดและจำนวนของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้หลังตัดด้วยเรสทริกชันเอนไซม์ (restriction enzyme) ชนิดเดียวกัน นอกจากนั้นอาจประเมินความแตกต่างของดีเอ็นเอโดยตรวจดูความยาวของผลิตภัณฑ์ PCR ที่เพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์คู่เดียวกัน เป็นต้น เทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ความแตกต่างของดีเอ็นเอมีหลายวิธี ได้แก่

3.1 การหาลำดับเบส (DNA sequencing) ของดีเอ็นเอบางบริเวณ การตรวจความแตกต่างโดยวิธีนี้มีความละเอียดสูงมาก แต่มีค่าใช้จ่ายสูง ไม่เหมาะที่จะใช้วิเคราะห์เมื่อมีจำนวนตัวอย่างมาก

3.2 PCR-RFLP เป็นเทคนิคที่ใช้ประเมินความแตกต่างของลำดับเบสของดีเอ็นเอบริเวณที่สนใจศึกษาด้วยการใช้เรสทริกชันเอนไซม์ตัดสายดีเอ็นเอ การตัดจะเกิดขึ้นตรงจุดที่ดีเอ็นเอมีลำดับเบสจำเพาะหนึ่งๆ เท่านั้น จากนั้นจึงวิเคราะห์ขนาดและจำนวนชิ้นของดีเอ็นเอที่ตัดได้โดยการทำอิเลคโทรโฟริซีสในอะกาโรสเจล (agarose gel)

3.3 PCR-based DNA fingerprinting เป็นการประเมินความแตกต่างของดีเอ็นเอตรงบริเวณที่มีการเรียงตัวของเบสซ้ำๆ กัน (repeated sequence) ที่เรียกว่า satellite DNA ดีเอ็นเอบริเวณที่มีการเรียงตัวที่เป็นชุดซ้ำที่ประกอบด้วย 1-6 เบส เช่น $(A)_n$, $(GT)_n$, และ $(GCTA)_n$ เรียกว่า microsatellite DNA ส่วนดีเอ็นเอบริเวณที่มีชุดซ้ำที่ประกอบด้วยเบส 20–30 เบส เรียกว่า minisatellite DNA โดยปกติในจีโนมของยูคาริโอตจะมี micro- และ minisatellite DNA กระจายอยู่ทั่วไป บริเวณนี้จะมีความแตกต่างของดีเอ็นเอสูง โดยความแตกต่างจะอยู่ที่จำนวนของชุดซ้ำ เช่น ในกลุ่มประชากรหนึ่งมี microsatellite DNA ชนิด $(GATC)_n$ ที่ตำแหน่งหนึ่งอยู่ 4 แบบ หรือ 4 อัลลีล คือ $(GATC)_5$, $(GATC)_6$, $(GATC)_8$ และ $(GATC)_{12}$ ดังนั้นเมื่อเพิ่มปริมาณ microsatellite DNA ที่ตำแหน่งจำเพาะนี้ด้วย PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ 1 คู่ ขนาบ 2 ข้าง ของ microsatellite ดีเอ็นเอนี้ ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้เมื่อใช้ตัวอย่างต่างๆ กัน จะมีขนาดแตกต่างกันอยู่ 4 แบบ ซึ่งสามารถตรวจวิเคราะห์ความแตกต่างนี้ได้ด้วยการใช้พอลิอคริลาไมด์เจลอิเลคโทรโฟริซิส (polyacrylamide gel electrophoresis) เมื่อทำการวิเคราะห์ micro- หรือ minisatellite หลายๆ ตำแหน่ง (loci) ของตัวอย่าง (specimen) เดียวกัน จะพบความแตกต่างหลากหลายที่จะใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับกลุ่มประชากร และในระดับการระบุบุคคลเปรียบเสมือนลายพิมพ์นิ้วมือได้ด้วย

**บริเวณของดีเอ็นเอที่ใช้ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับสปีชีส์เดียวกัน (Intraspecific Studies)**

สิ่งมีชีวิตในสปีชีส์เดียวกันมีความแตกต่างของดีเอ็นเอค่อนข้างน้อย การเลือกบริเวณของดีเอ็นเอเพื่อศึกษาความแตกต่างจึงมีความสำคัญมาก บริเวณที่เลือกควรจะต้องมีความแตกต่างของดีเอ็นเอสูง บริเวณที่นิยมใช้ศึกษากันได้แก่ noncoding sequence เพราะเป็นบริเวณที่สะสมมิวเตชัน (mutation) สูงกว่า coding sequence สิ่งมีชีวิตจำพวกสัตว์ประกอบด้วยเซลล์ประเภทยูคาริโอท (eukaryote) มีดีเอ็นเออยู่ทั้งในนิวเคลียสและไมโทคอนเดรียล ในส่วนของนิวเคลียสดีเอ็นเอบริเวณที่นิยมศึกษากันมาก คือ microsatellite DNA (Estoup et al.,1993) และส่วนอินทรอน (intron) ของยีนต่างๆ สำหรับไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณของ noncoding region ที่นิยมใช้ศึกษาในสิ่งมีชีวิตทั่วไป ได้แก่

control region (D-loop) สำหรับผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ส่วนที่นิยมใช้ศึกษาความแตกต่างคือ intergenic COI–COII (intergenic region of cytochrome oxidase subunit I and cytochrome oxidase subunit II) ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเป็นดีเอ็นเอเกลียวคู่รูปวงแหวนขนาด 16-20 กิโลเบส มีจำนวนชุดสูงในแต่ละเซลล์ มีอัตราการมิวเตท (mutate) สูงกว่านิวเคลียดีเอ็นเอ 5–10 เท่า ไม่มีรีคอมบิเนชัน (recombination) และถ่ายทอดจากแม่เท่านั้น การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของผึ้งโดยใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจะทำได้สะดวก เพราะผึ้งทุกตัวในรังเดียวกันจะมีไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเหมือนกันหมดเนื่องจากเกิดจากนางพญาตัวเดียวกัน ดังนั้นจึงใช้ผึ้งตัวอย่างเพียง 1 ตัว ก็เพียงพอที่จะเป็นตัวแทนของผึ้งทั้งรัง

## ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การแบ่งกลุ่มผึ้งโพรง (*A. cerana*) ในประเทศไทย มีการศึกษาด้วยการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐาน (morphometric analysis) โดย Sylvester et al., (1998) ใช้ตัวอย่างผึ้ง 128 ตัว จากทั่วประเทศไทยและจาก 2 กลุ่มประชากรในมาเลเซีย (Selangor และ Jahor) พบว่าสามารถแบ่งผึ้งโพรงได้เป็น 4 กลุ่มประชากร คือ กลุ่มผึ้งตอนเหนือ (ภาคเหนือ, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง) กลุ่มผึ้งตอนใต้ (ผึ้งภาคใต้ของประเทศไทย และมาเลเซีย) กลุ่มผึ้งในเกาะภูเก็ต และกลุ่มผึ้งในเกาะสมุย ถึงแม้จะมีรายงานความหลากหลายทางพันธุกรรมของผึ้งโพรงในประเทศไทย โดยใช้ความแตกต่างของดีเอ็นเออยู่บ้าง แต่รายงานเหล่านั้นมุ่งเน้นการศึกษาความหลากหลายของผึ้งโพรงทั่วเอเชีย หรือบางภูมิภาคของเอเชีย จึงทำให้จำนวนตัวอย่างของผึ้งโพรงจากประเทศไทยยังต่ำอยู่ โดยจำนวนผึ้งที่ศึกษาเป็น 5 และ 6 รัง จากรายงาน Deowanish et al., (1996) และ Smith and Hagen, (1997) ตามลำดับ Deowanish ศึกษาความแตกต่างของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของผึ้งบริเวณ $tRNA^{leu}$ ถึงยีน cytochrome oxidase subunit II (COII) โดยใช้ดีเอ็นเอบริเวณดังกล่าวนี้เป็นดีเอ็นเอติดตาม (DNA probe) ทำการไฮบริไดซ์ (hybridization) กับ total DNA ของผึ้งที่ตัดด้วยเรสทริกชันเอมไซม์ 10 ชนิด (*Hac*III, *Hinf*I, *Bel*II, *Bgl*II, *Eco*RI, *Eco*RV, *Hin*cII, *Hin*dIII, *Nde*I และ *Spc*I) ผลการศึกษาชี้ว่าผึ้งโพรงในประเทศไทยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มผึ้งโพรงตอนเหนือของประเทศ และกลุ่มผึ้งโพรงตอนใต้ ซึ่งเป็นผึ้งที่อยู่ภาคใต้รวมทั้งเกาะสมุย การศึกษาของ Smith และ Hagen (1997) โดยการหาลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอตรงส่วน intergenic region ของ cytochrome oxidase subunit I และ II (intergenic COI-COII) ชี้ว่าผึ้งโพรงในเกาะสมุยเป็นคนละกลุ่มกับผึ้งโพรงจากเชียงใหม่

สำหรับงานวิจัยผึ้งโพรงนี้ มีวัตถุประสงค์ คือ

1. ศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ของผึ้งโพรงทั่วประเทศไทย โดยวิธีวิเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA analysis) ดังนี้

   1.1 PCR–RELP ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณต่างๆ ดังต่อไปนี้

      ก. intergenic COI-COII (intergenic region of cytochrome oxidase subunitI and cytochrome oxidase subunit II), lrRNA gene (large subunit ribosomal RNA gene) และ ssRNA gene (small subunit ribosomal RNA gene) โดยตัดดีเอ็นเอทั้ง 3 ริเวณนี้ด้วย *Dra*I

      ข. ATPase 6–ATPase 8 genes ที่ตัดด้วย *Taq*II, *Ssp*II และ *Vsp*II

   1.2 วิเคราะห์ลำดับเบสของ lrRNA gene ในไมโทคอนเดรีย

   1.3 Microsatellite DNA analysis

2. จำแนกกลุ่มประชากรของผึ้งโพรง โดยวิเคราะห์ข้อมูลจากความแตกต่างของดีเอ็นเอ (DNA polymorphism) บริเวณต่างๆ

## วิธีการ

เก็บตัวอย่างผึ้งงานจากรังต่างๆ ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยเก็บใน 95% ethanol ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำมาถึงห้องปฏิบัติการจึงเก็บไว้ที่ 4°C จนถึงเวลาใช้สกัด total DNA ของผึ้งด้วย phenol–chloroform ตามวิธีของ Smith and Hagen (1997) และวิเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA anaysis) ดังนี้

***PCR-RFLP***

เพิ่มปริมาณไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของผึ้งแต่ละตัวด้วย PCR ในบริเวณ intergenic COI-COII, lrRNA gene, ssRNA gene และ ATPase 6–ATPase 8 ด้วยไพรเมอร์ของผึ้งพันธุ์ตามที่ระบุโดย Kocher et al., 1989; Hall and Smith, 1991; Rochrdanz, 1993 และ Crozier and Crozier 1993 ตามลำดับ และใช้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับผึ้งโพรง (Sihanunthavong, 1996; and Songrum, 1997)

ตัดผลิตภัณฑ์ PCR ของ intergenic COI-COII, lrRNA gene และ ssRNA gene ด้วย *Dra*I และ PCR ของ ATPase 6–ATPase 8 ด้วย *Taq*I, *Ssp*I และ *Vsp*I ตรวจขนาดและจำนวนชิ้นของชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดได้ด้วยการวิเคราะห์ใน MetaPhor agarose gel electrophoresis รูปแบบหลังตัด (restriction profile) ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอแต่ละบริเวณด้วยเรสทริกชันเอนไซม์จะถูกใส่ไว้ในรูปตัวอักษร A, B, C … โดยเรียงตามความถี่ที่พบจากมากไปน้อย รูปแบบหลังตัดรวม (composite haplotypes) ของผึ้งแต่ละตัวที่ได้จากการตัดไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ 3 บริเวณ intergenic COI-COII, lrRNA gene และ ssRNA gene ด้วย *Dra*I จะเป็นอักษร 3 ตัวเรียงกัน เช่น AAA, AAB, BCB โดยเรียงจากบริเวณที่ให้รูปแบบหลังตัดน้อยไปหามาก ส่วนการตัด ATPase 6–ATPase 8 genes ก็เช่นกัน รูปแบบหลังตัดรวมจะเป็นตัวอักษร 3 ตัวเรียงกันจากเรสทริกชันเอมไซม์ที่ให้รูปแบบการตัดน้อยไปหามาก การวิเคราะห์ค่าสถิติต่างๆ ทำโดยใช้ Restriction Enzyme Analysis Package, REAP ค่า REAP (McElroy et al., 1991) และหาค่า Fst โดยใช้ GENEPOP (Raymond and Rousset, 1995) สร้าง phylogenic tree โดยใช้ UPGMA ใน Phylip version 3.57c

***การวิเคราะห์ลำดับเบสของ lrRNA gene***

สุ่มเลือกผึ้งที่มี haplotype ของ PCR–RFLP ของ lrRNA gene ที่ตัดด้วย *Dra*I เป็น A, B, C และ D อย่างละ 2 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างที่สุ่มเลือกนี้เป็นผึ้งจากภาคกลาง (n=2) ภาคเหนือ (n=1) ตะวันออกเฉียงเหนือ (n=1) เกาะภูเก็ต (n=1) และเกาะสมุย (n=3) มาทำการทดลอง โดยเพิ่มปริมาณ lrRNA gene จากตัวอย่างผึ้งเหล่านี้ด้วย PCR แล้วนำผลิตภัณฑ์ PCR มาทำการวิเคราะห์ลำดับเบสโดยใช้ Omnibase™ DNA cycle – sequencing system ตามวิธีการที่แนะนำโดยบริษัทผู้ผลิต (Promega)

นำข้อมูลลำดับเบสของ lrRNA gene ของผึ้งที่วิเคราะห์ได้มา digned โดยใช้ Clustal V. คำนวณค่า genetic distance (d) ระหว่างแต่ละลำดับเบสของ lrRNA gene ที่ได้โดยใช้ Kimura's two parameter method (d=¾ *ln*(1–4/3 k)) โดย k คือ ค่า percentage difference ในองค์ประกอบของเบส (base composition)

***Microsatellite DNA Analysis***

หาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ microsatellite DNA ของผึ้งโพรง 50 ตัว ที่ตำแหน่ง A7, A8, A14, A24, A28, A29, A35, A79, A88, A107 และ A113 ด้วย PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของผึ้งพันธุ์ที่พัฒนาโดย Estoup et al. (1993, 1994, 1995) คัดตำแหน่งที่ให้ผลเป็น polymorphic จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ A28, A107 และ A113 มาใช้ในการวิเคราะห์ขนาดของอัลลีลของ microsatellite DNA ตำแหน่งดังกล่าว โดยการแยกผลิตภัณฑ์ PCR ที่เพิ่มปริมาณได้ด้วย 6% denaturating polyacrylamide gels โดยใช้ sequencing reaction ของ M13 เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน ทำการหาจำนวนอัลลีล ความถี่ของแต่ละอัลลีล ค่า observed และ expected heterozygosity ของทุกตำแหน่งของ microsatellite ในแต่ละกลุ่มประชากรของผึ้ง วิเคราะห์ geographic heterogeneity และทำ phylogenetic reconstruction โดยใช้ Neighbor–joining approach โดยใช้โปรแกรม Phylip (Felsenstein, 1993)

## ผลการวิจัย

***PCR-RFLP ของการตัดผลิตภัณฑ์ PCR ของ 3 บริเวณ***

***(intergenic COI-COII, lrRNA gene และ ssRNA gene) ด้วย DraI***

การเพิ่มปริมาณด้วย PCR ของบริเวณทั้ง 3 จะให้ผลิตภัณฑ์ขนาดเดียว คือ 410, 755 และ 1,710 bp สำหรับ ssRNA gene, lrRNA gene และ intergenic COI-COII ตามลำดับ หลังจากนำผลิตภัณฑ์นี้มาตัดด้วย *Dra*I พบว่า ssRNA gene ของผึ้งทั่วประเทศจะให้รูปแบบการตัด 3 แบบ ขณะที่ lrRNA gene และ intergenic COI-COII จะให้

รูปแบบหลังตัด 4 และ 7 รูปแบบ ตามลำดับ เมื่อรวมผลการตัดจากทั้ง 3 บริเวณ พบว่าผึ้งโพรงมีดีเอ็นเอใน 3 บริเวณดังกล่าวเป็น 12 composite haplotypes การกระจายตัวของผึ้งในแหล่งต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 1 โดย Haplotype ที่พบสูงที่สุด คือ AAA (44%) และ BBB (35%) โดย AAA จะพบเฉพาะในกลุ่มผึ้งโพรงตอนเหนือ (ภาคเหนือ, ภาคกลาง, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) ส่วน BBB จะพบเฉพาะในภาคใต้, เกาะสมุย และเกาะภูเก็ต สำหรับผึ้งโพรงในเกาะสมุยนั้นประมาณ 50% จะมี composite haplotype จำเพาะ คือ BCB และ BCC ซึ่งไม่พบในแหล่งใดเลย

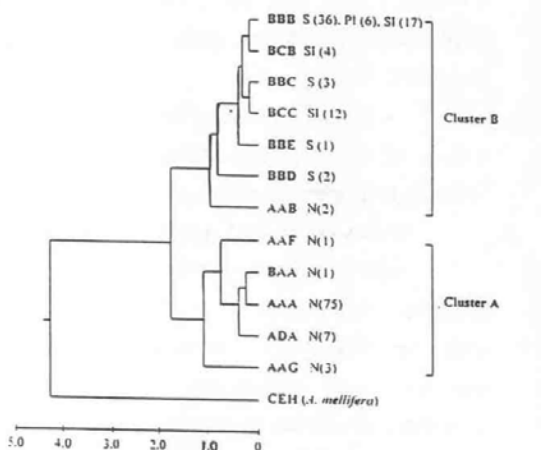
ตารางที่ 1. การกระจายของทั้ง 12 composite haplotypes ของผึ้งโพรงในบริเวณต่างๆ ของประเทศไทย

| Composite Haplotype | Distribution | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| | North | South | Phuket Island | Samui Island | |
| IAAA | 75 | | | | 75 |
| II AAB | 2 | | | | 2 |
| III AAF | 1 | | | | 1 |
| IV AAG | 3 | | | | 3 |
| V ADA | 7 | | | | 7 |
| VI BAA | 1 | | | | 1 |
| VII BBB | | 36 | 6 | 17 | 59 |
| VIII BBC | | 3 | | | 3 |
| IX BBD | | 2 | | | 2 |
| X BBE | | 1 | | | 1 |
| XI BCB | | | | 4 | 4 |
| XII BCC | | | | 12 | 12 |
| **Total** | **89** | **42** | **6** | **33** | **170** |

Genetic distance ที่คำนวณระหว่าง composite haplotype แต่ละแบบของผึ้งโพรงจะมีค่าต่างกันอยู่ระหว่าง 0.374-4.795% (ค่าเฉลี่ยเป็น 2.450%) ขณะที่ genetic distance ที่คำนวณระหว่าง composite haplotype แต่ละแบบของผึ้งโพรงและผึ้งพันธุ์จะมีค่าอยู่ระหว่าง 6.758-10.477%

UPGMA phenogram จะแบ่งผึ้งเป็น 2 กลุ่ม (Cluster A และ B) โดยมีค่า genetic distance เฉลี่ยเป็น 1.727% (ดังแสดงไว้ในภาพที่2) แสดงว่าผึ้งโพรงในประเทศไทยมี 2 กลุ่มวิวัฒนาการ ได้แก่ ผึ้งโพรงตอนเหนือ และผึ้งโพรงตอนใต้

ค่า haplotype และ nucleotide diversity ภายในกลุ่มประชากรมีค่าค่อนข้างสูง ยกเว้นภายในเกาะภูเก็ต (ตารางที่2) ค่า average nucleotide divergence ที่เปรียบเทียบกันระหว่างแต่ละกลุ่มของตัวอย่างผึ้งที่มีค่าเป็น 1.525±0.004 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผึ้งโพรงในประเทศไทยมีการแยกเป็นกลุ่มประชากรย่อยได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P<6.0001$, $F_{st}=0.199$-0.753) ทุกกลุ่มยกเว้นระหว่างกลุ่มภาคใต้และเกาะสมุย (ตารางที่3) จากผลนี้ชี้ให้เห็นว่าผึ้งในภาคใต้และผึ้งจากภูเก็ตเป็นกลุ่มประชากรเดียวกัน แต่เป็นคนละกลุ่มประชากรกับผึ้งในเกาะสมุย (Sihanuntavong et al.,1999)




ภาพที่ 2. UPGMA phenogram ที่สร้างจาก percent sequence divergence ของ 12 composite haplotypes 12 แบบ จำนวนตัวอย่างผึ้งแสดงไว้ในวงเล็บ (N=เหนือ, PI=เกาะภูเก็ต, S=ใต้ และ SI=เกาะสมุย)

***PCR-RFLP ของ ATPase 6–ATPase 8 ที่ตัดด้วย TaqI, SspI และ VspI***

ตัวอย่างผึ้งทั้งหมดจะให้ผลิตภัณฑ์ PCR ของ ATPase 6–ATPase 8 ที่มีขนาด 825 bp แต่ 83% ของผึ้งจากภาคใต้ และ 60% ของผึ้งจากเกาะสมุยจะมี length heteroplasmy โดยมีแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น 1-3 แถบ (850, 890 และ 925 bp) เนื่องจากตัวอย่างผึ้งทุกตัวจะให้แถบดีเอ็นเอขนาด 825 bp จึงนำชิ้นดีเอ็นเอนี้มาวิเคราะห์ RFLP ต่อไป

การตัดผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 825 bp ด้วย *Taq*I, *Ssp*I และ *Vsp*I จะให้รูปแบบที่ต่างกัน 2, 4 และ 4 รูปแบบ ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างผึ้ง 177 ตัวอย่าง ที่กระจายตัวตามพื้นที่ต่างๆ พบว่ามี composite haplotype 8 แบบ ดังแสดงในตารางที่ 4 composite haplotype (AAA) จะพบอยู่มากถึง 70% ในผึ้งตอนเหนือของประเทศ (ภาคเหนือ, ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) ส่วน composite haplotype BBB จะพบอยู่ในผึ้งภาคใต้ และเกาะสมุย ส่วนผึ้งในเกาะสมุยนั้นจะมีประมาณ 50% ที่มี haplotype จำเพาะคือ BBC ซึ่งไม่พบในผึ้งแหล่งใดเลย

หลังจากวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จาก PCR–RFLP ของ ATPase 6–ATPase 8 gene ที่ตัดด้วย *Taq*I, *Ssp*I และ *Vsp*I ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับที่ได้จาก PCR–RFLP ของไมโทคอนเดรียล 3 บริเวณคือ ผึ้งในประเทศไทยมี 2 สายวิวัฒนาการคือ กลุ่มผึ้งในตอนเหนือ และกลุ่มผึ้งในตอนใต้ สำหรับการแบ่งกลุ่มประชากรนั้นแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ ผึ้งโพรงตอนเหนือ ผึ้งโพรงภาคใต้ และผึ้งโพรงเกาะสมุย ดังแสดงไว้ในภาพที่ 3

ตารางที่ 2. ค่า Haplotype (h) และ percentage nucleotide diversity ($\pi$) ภายใน 4 กลุ่มผึ้งโพรงไทย

| Site | Haplotype diversity (h±s.e.) | Nucleotide diversity × 100 ($\pi$±s.e.) |
|---|---|---|
| North | 0.283±0.043 | 0.297 |
| South | 0.261±0.061 | 0.190 |
| Phuket Island | 0.000±0.000 | 0.000 |
| Samui Island | 0.597±0.033 | 0.384 |

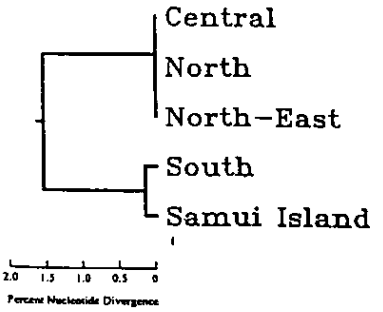
ตารางที่ 3. Pairwise comparison ของค่า nucleotide divergence (ด้านบน) และ $F_{st}$ (ด้านล่าง) ระหว่างแต่ละกลุ่มของผึ้งโพรงไทย

| Site | North | South | Phuket Island | Samui Island |
|---|---|---|---|---|
| North | - | 2.886 | 2.906 | 3.095 |
| South | 0.696*** | - | 0.003 | 0.120 |
| Phuket Island | 0.753*** | -0.006 ns | - | 0.137 |
| Samui Island | 0.601*** | 0.199*** | 0.210*** | - |

หมายเหตุ: ns not significant *** P < 0.0001

ตารางที่ 4. ความถี่ของการกระจายตัวของ composite haplotypes ทั้ง 8 แบบ ในผึ้งโพรงจากแหล่งต่างๆ ของประเทศ เมื่อวิเคราะห์ด้วยการตัด ATPase 6–ATPase 8 ด้วย *Taq*I, *Ssp*I และ *Vsp*I

| Haplotype | | Distribution frequency | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | North | North-East | Central | South | Samui Island | |
| I | AAA | 34 | 27 | 29 | | | 90 |
| II | ACA | 2 | 1 | | | | 3 |
| III | AAD | | 1 | | | | 1 |
| Iv | BAA | | | 1 | | | 1 |
| V | ADA | | | 1 | | | 1 |
| vI | ABA | | | | 50 | 15 | 65 |
| vII | BBB | | | | | 15 | 15 |
| vIII | BBC | | | | | 15 | 15 |
| Total | | 36 | 29 | 31 | 50 | 45 | 191 |




ภาพที่ 3. UPGMA phenogram ของผึ้งโพรงจากแหล่งต่างๆ ของประเทศไทย เมื่อวิเคราะห์ด้วย PCR-RFLP ที่ตัด ATPase 6 – ATPase 8 gene ด้วย *Taq*I ,*Ssp*I และ *Vsp*I

***Microsatellite Analysis***

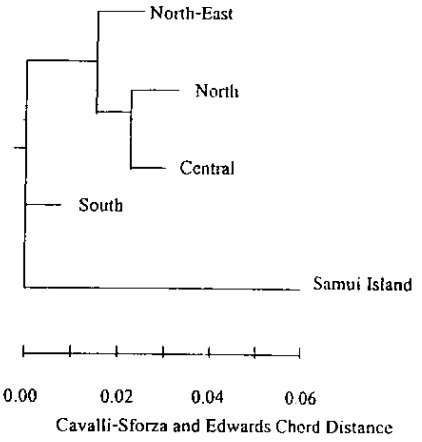
ได้ทดลองเพิ่มปริมาณ microsatellite DNA ที่ตำแหน่ง A7, A8, A14, A24, A28, A29, A35, A43, A81, A88, A107 และ A113 ของผึ้งโพรงจากแหล่งต่างๆ ประมาณ 50 ตัว โดยใช้ไพรเมอร์จากผึ้งพันธุ์ พบว่า 5 ตำแหน่งของ microsatellite DNA คือ A7, A29, A35, A43 และ A79 ไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้ไม่ว่าจะปรับสภาวะเป็นเช่นใด ผลนี้แสดงว่าบริเวณที่ใช้ออกแบบสร้างไพรเมอร์ของผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรงมีลำดับเบสต่างกัน หลังหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ microsatellite DNA ที่ตำแหน่ง

อื่นๆ ได้แล้ว (Laoaroon, 1998) จึงใช้สภาวะเหล่านี้เพิ่มปริมาณ microsatellite DNA ของผึ้งโพรงประมาณ 50 ตัว หลังวิเคราะห์ขนาดของ microsatellite DNA ด้วยการแยกใน 6% denaturing polyacrylamide gel แล้ว พบว่าผึ้งโพรงทุกตัวมี microsatellite DNA ที่มีความยาวเท่ากัน (monomorphic) ที่ตำแหน่ง A14, A81 และ A88 โดยมีขนาดอัลลีลเป็น 180, 132 และ 138 bp ตามลำดับ microsatellite DNA ที่ตำแหน่ง A8 พบเพียง 2 อัลลีล (160, 165 bp) ตำแหน่ง A24 ถึงแม้จะมี 3 อัลลีล (95, 96, 97 bp) แต่ค่อนข้างเล็ก ไม่สะดวกในการใช้วิเคราะห์ microsatellite loci A28, A107 และ A113 พบมีจำนวนอัลลีล 24 (108-132 bp), 10 (155-169 bp) และ 3 อัลลีล (182, 186 และ 196 bp) ดังนั้นในการศึกษาความแตกต่างของดีเอ็นเอ ครั้งนี้จึงใช้ microsatellite ที่ตำแหน่ง A28, A107 และ A113

ผลการวิเคราะห์ความยาวของ microsatellite DNA หรือขนาดของอัลลีล ที่ตำแหน่งต่างๆ ของผึ้งโพรงจากแหล่งต่างๆ ทั่วประเทศจำนวน 257 รัง ได้ผลดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 จะเห็นว่าที่ตำแหน่ง A28 ซึ่งมี 24 อัลลีล ขนาด 118 bp จะมีความถี่สูง โดยพบในผึ้งภาคเหนือ (0.344), เกาะสมุย (0.289), ภาคกลาง (0.240), ภาคใต้ (0.125) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (0.102) ตามลำดับ ส่วนอัลลีลขนาด 124 bp จะพบมากที่สุดในเกาะสมุย (0.316) ขณะที่ไม่พบเลยในผึ้งภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ที่ตำแหน่ง A107 อัลลีลขนาด 168 bp จะพบทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศไทย เป็นอัลลีลที่มีความถี่สูงในทุกที่ ยกเว้นเกาะสมุยมีอัลลีลที่มีความถี่สูงของ คือ 196 bp อัลลีลขนาด 182 bp จะพบเฉพาะในผึ้งจากภาคกลางและภาคเหนือเท่านั้นและมีความถี่ที่ต่ำมาก

observed heterozygosity (ตารางที่ 4) เป็นค่าที่หาได้จากจำนวนตัวอย่างที่เป็น heterozygote (ตัวอย่างผึ้งที่หลังเพิ่มปริมาณ microsatellite DNA แล้ว ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เป็น 2 แถบ ตัวอย่างนั้นจะเป็น heterozygote แต่ถ้าให้ผลิตภัณฑ์ PCR เพียง 1 แถบ จะเป็น homozygote) จะมีค่าต่ำกว่าค่า expected heterozygosity ที่คำนวณได้จากสูตรในทุกๆ ตำแหน่ง ค่า average heterozygosities ของผึ้งโพรงในประเทศไทยจะมีค่าค่อนข้างต่ำอยู่ระหว่าง 0.18-0.46 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระดับความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic variation level) ของผึ้งโพรงในประเทศไทยต่ำ เมื่อวิเคราะห์ geographic heterogeneity และสร้าง phylogenetic tree ด้วย Neighbor-joining approach พบว่าผึ้งโพรงทุกภูมิภาค แบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มผึ้งโพรงตอนเหนือ (ภาคเหนือ, ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) กลุ่มผึ้งโพรงตอนใต้ และ กลุ่มผึ้งเกาะสมุย การทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาด้วย PCR-RFLP ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณต่างๆ ดังแสดงไว้ในภาพที่ 4




ภาพที่ 4. Neighor–joining tree (ของ Cavalli–Sforza และ Edwards chord distance) ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผึ้งโพรงจากภูมิภาคต่างๆ

***ผลจากลำดับเบสของ large subunit ribosomal RNA gene (lrRNA gene)***

จากผลการศึกษาโดย PCR–RFLP ของ lrRNA gene พบว่ายีนนี้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างกลุ่มประชากรได้เท่าเทียมกับ intergenic COI-COII แต่ lrRNA gene ให้ผลการวัดด้วย *Dra*I เพียง 4 haplotypes ขณะที่ intergenic CO I-COII มีถึง 7 haplotypes ดังนั้นจึงเลือก lrRNA gene เพื่อศึกษาลำดับเบสต่อไป โดยสุ่มเลือกผึ้งโพรงจากแหล่งต่างๆ ให้มี haplotype A, B, C และ D อย่างละ 2 ตัว นำมาหาลำดับเบส พบว่าตัวอย่างที่มี haplotype เหมือนกันจะมีลำดับเบสเหมือนกัน haplotype A และ D จะมีความยาวของนิวคลีโอไทด์เป็น 654 base ขณะที่ haplotype B และ C มีความยาวเป็น 653 base ค่าเฉลี่ยของแต่ละเบสใน lrRNA gene จะเป็น 43.03%, 41.44%, 5.60% และ 9.92% สำหรับ A, T, G และ C ตามลำดับ ลำดับเบสหลัง aligned โดย Custal V แสดงไว้ในภาพที่ 5 และ Sittipraneed et al. (2001)

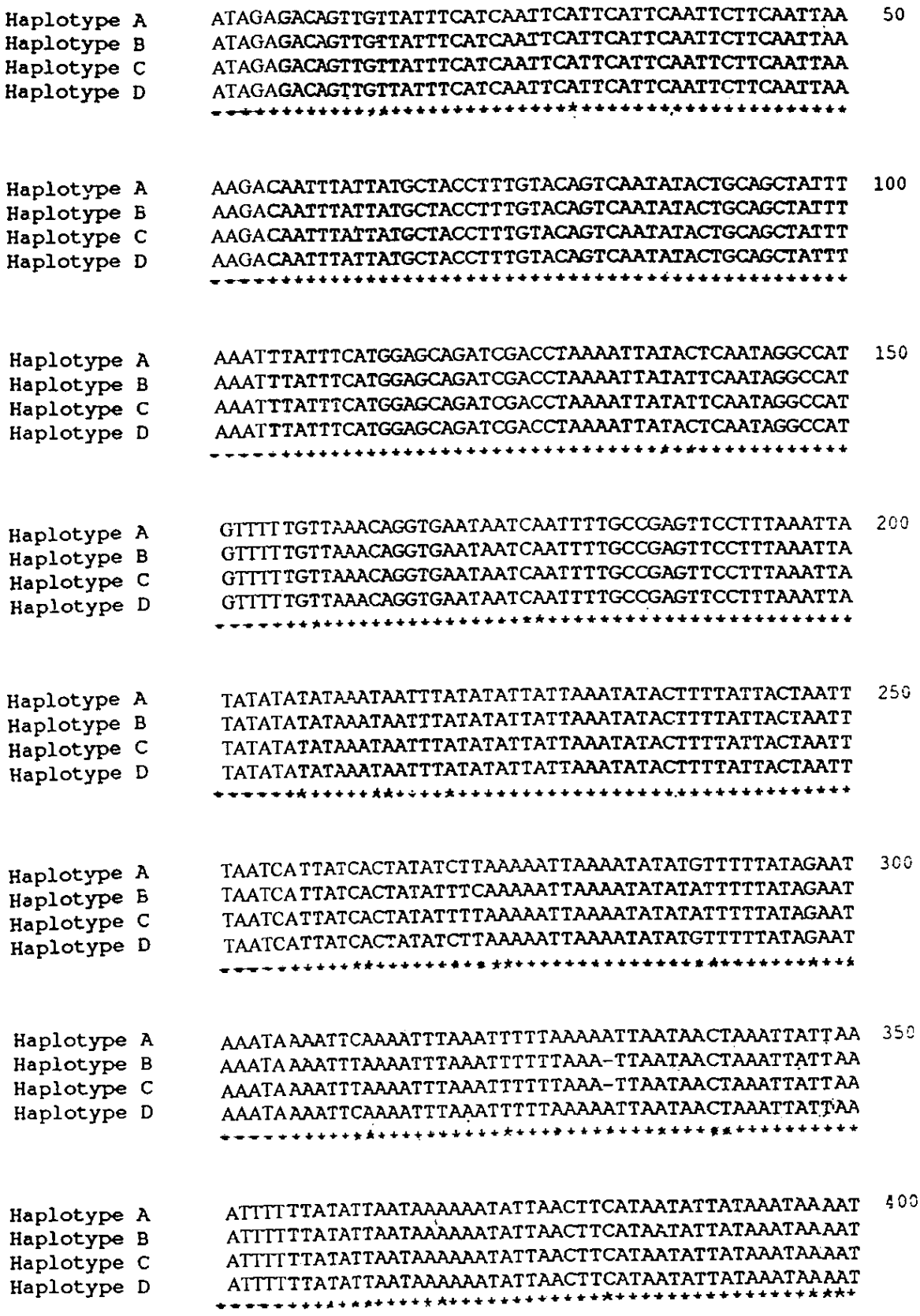
homology ระหว่าง haplotype A และ D สูงถึง 99.85% ขณะที่ homology ระหว่าง haplotype A และ B กับ haplotype B และ D จะต่ำที่สุด คือ 97.40%

ตารางที่ 5. แสดงค่าความถี่ของแต่ละอัลลีล, ค่า observed และ expected heterozygosity A107 และ A113 ของผึ้งโพรงจากกลุ่มประชากรต่างๆ ในประเทศไทย (Sittipraneed et al., 2001)

| | Allele (bp) | North ($n$ = 45) | Central ($n$ = 52) | North-east ($n$ = 54) | Peninsular Thailand ($n$ = 68) | Samui island ($n$ = 38) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Locus A28 | 108 | 0.011 | – | 0.019 | – | – |
| | 109 | – | 0.010 | – | 0.022 | – |
| | 110 | 0.011 | 0.010 | – | – | 0.013 |
| | 111 | – | – | – | 0.007 | – |
| | 112 | 0.022 | – | 0.019 | – | – |
| | 113 | 0.011 | 0.029 | – | 0.007 | 0.013 |
| | 114 | 0.033 | 0.029 | 0.056 | 0.074 | 0.026 |
| | 115 | 0.100 | 0.096 | 0.065 | 0.007 | – |
| | 116 | 0.022 | 0.087 | 0.028 | 0.051 | 0.079 |
| | 117 | 0.044 | 0.038 | 0.037 | 0.074 | – |
| | 118 | 0.344 | 0.240 | 0.102 | 0.125 | 0.289 |
| | 119 | 0.078 | 0.077 | 0.167 | 0.103 | 0.079 |
| | 120 | 0.133 | 0.115 | 0.148 | 0.037 | 0.013 |
| | 121 | 0.067 | 0.115 | 0.083 | 0.118 | 0.053 |
| | 122 | – | 0.038 | 0.056 | 0.015 | 0.026 |
| | 123 | – | 0.038 | 0.028 | 0.037 | – |
| | 124 | 0.033 | 0.010 | – | 0.088 | 0.316 |
| | 125 | 0.044 | 0.029 | 0.019 | 0.118 | 0.013 |
| | 126 | 0.011 | 0.019 | 0.130 | 0.037 | 0.079 |
| | 127 | – | 0.019 | 0.046 | 0.051 | – |
| | 128 | – | – | – | 0.022 | – |
| | 129 | 0.011 | – | – | – | – |
| | 130 | – | – | – | 0.007 | – |
| | 132 | 0.022 | – | – | – | – |
| Number of alleles | | 17 | 17 | 15 | 19 | 12 |
| $H_o$ | | 0.578 | 0.558 | 0.667 | 0.676 | 0.526 |
| He | | 0.844 | 0.894 | 0.908 | 0.924 | 0.804 |
| Locus A107 | 155 | – | – | – | 0.015 | – |
| | 156 | 0.012 | 0.028 | 0.028 | – | – |
| | 157 | 0.070 | 0.037 | 0.009 | – | – |
| | 158 | 0.023 | 0.028 | 0.009 | – | – |
| | 159 | 0.012 | 0.056 | 0.074 | 0.007 | – |
| | 161 | 0.012 | 0.009 | – | 0.007 | – |
| | 165 | 0.035 | 0.009 | 0.019 | – | – |
| | 166 | – | 0.009 | 0.009 | 0.007 | – |
| | 167 | 0.814 | 0.824 | 0.833 | 0.816 | 1.000 |
| | 169 | 0.023 | – | 0.019 | 0.147 | – |
| Number of alleles | | 8 | 8 | 8 | 6 | 1 |
| $H_o$ | | 0.538 | 0.167 | 0.259 | 0.279 | 0.000 |
| He | | 0.334 | 0.317 | 0.301 | 0.314 | 0.000 |
| Locus A113 | 182 | 0.034 | 0.144 | – | – | – |
| | 186 | 0.750 | 0.606 | 0.692 | 0.582 | 0.014 |
| | 196 | 0.216 | 0.250 | 0.308 | 0.418 | 0.986 |
| Number of alleles | | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| $H_o$ | | 0.477 | 0.512 | 0.269 | 0.418 | 0.027 |
| He | | 0.394 | 0.555 | 0.430 | 0.490 | 0.027 |
| Mean no. of alleles per locus | | 9.3 ± 1.90 | 9.3 ± 1.90 | 8.3 ± 1.84 | 9.0 ± 2.42 | 5.0 ± 2.22 |
| Average $H_o$ | | 0.41 ± 0.072 | 0.42 ± 0.302 | 0.40 ± 0.301 | 0.46 ± 0.243 | 0.18 ± 0.509 |
| Average He | | 0.52 ± 0.314 | 0.59 ± 0.309 | 0.55 ± 0.353 | 0.58 ± 0.338 | 0.28 ± 0.638 |

$n$ = Number of individuals examined

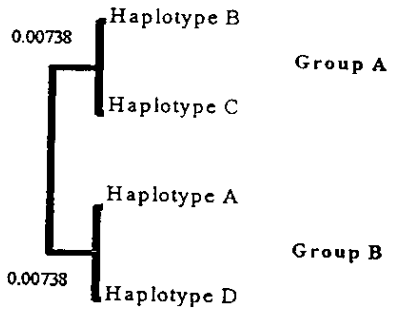
หลังจากคำนวณ genetic distance ระหว่างลำดับเบสของแต่ละ haplotypes แล้ว จึงสร้าง phylogenetic tree โดยใช้ UPGMA (ภาพที่ 6) สามารถแบ่งผึ้งได้เป็น 2 กลุ่มวิวัฒนาการ (A และ B) กลุ่ม A ประกอบด้วยผึ้งที่มี haplotype A และ D ซึ่งพบในภาคเหนือ, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางเท่านั้น ส่วนกลุ่ม B จะพบในผึ้งที่มี haplotype B และ C ซึ่งจะพบในผึ้งภาคใต้และเกาะสมุย




ภาพที่ 5. ลำดับเบสของ IrRNA gene ของผึ้งโพรงซึ่งมี haplotype ของ IrRNA gene ที่ตัดด้วย DraI ต่างๆ กัน (*แสดงเบสที่เหมือนกันใน haplotype ทั้ง 4)

```
Haplotype A     CAAAAATTTTTATAAATAAATTTATAGTTTATCCCATAAATTTTTAATAT   450
Haplotype B     CAAAAATTTTTATAAATAAATTTATAGTTTATCCCATAAATTTTTAATAT
Haplotype C     CAAAAATTTTTATAAATAAATTTATAGTTTATCCCATAAATTTTTAATAT
Haplotype D     CAAAAATTTTTATAAATAAATTTATAGTTTATCCCATAAATTTTTAATAT
                ************************************************

Haplotype A     AAAAATTAATACTATAAAT-AAATTTTAAGGTATTAAAAATTTTATATCTA  500
Haplotype B     AAAAATTAATACTATAAAT-AAATTTTAATGTATTAAAAATTTTATATCTA
Haplotype C     AAAAATTAATACTATAAAT-AAATTTTAATGTATTAAAAATTTTATATCTA
Haplotype D     AAAAATTAATACTATAAAT-AAATTTTAAAGTATTAAAAATTTTATATCTA
                ************************ ********* ***************

Haplotype A     AATTAAATTTATTTCTAAAAAAACTAGATATCAATAACTTCGAATGACAT   550
Haplotype B     AATTAAATTTATTTCTAAAAAAACTAGATATCAATAACTTCGAATGACAT
Haplotype C     AATTAAATTTATTTCTAAAAAAACTAGATATCAATAACTTCGAATGACAT
Haplotype D     AATTAAATTTATTTCTAAAAAAACTAGATATCAATAACTTCGAATGACAT.
                ***************************************************

Haplotype A     TTAATCTCTAAATTTATATTTATAATTTTATTGCAACAAAAAAAATATTA   600
Haplotype B     TTAATCTCTAAATTTATATTTATAATTTTTATGCAACAAAAAAAATATTA
Haplotype C     TTAATCTCTAAATTTATATTTATAATTTTTATGCAACAAAAAAAATATTA
Haplotype D     TTAATCTCTAAATTTATATTTATAATTTTATTGCAACAAAAAAAATATTA
                ************************************************

Haplotype A     CAAATTTAGCTCACTTATTTTCGAGATATTTAAATTTATTAAATAAATTT   650
Haplotype B     TAAACTTAGCTCACTTATTTTCGAGATATTTAAATTTATTAAATAAATTT
Haplotype C     TAAACTTAGCTCACTTATTTTCGAGATATTTAAATTTATTAAATAAATTT
Haplotype D     CAAATTTAGCTCACTTATTTTCGAGATATTTAAATTTATTAAATAAATTT
                ************************************************

Haplotype A     TAAT
Haplotype B     TAAT
Haplotype C     TAAT
Haplotype D     TAAT
                ****
```

ภาพที่ 5. (ต่อ)




ภาพที่ 6. UPGMA dendrogram ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง haplotype ทั้ง 4 (A, B, C และ D)

## บทสรุป

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของผึ้งโพรงทั่วประเทศไทยจำนวน 170–257 รัง โดยใช้ความแตกต่างของดีเอ็นเอ (DNA polymorphism) จาก DNA markers หลายๆ แบบ ทั้งในส่วนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอและนิวเคลียสดีเอ็นเอพบว่า

1. ผึ้งโพรงในประเทศไทยแบ่งเป็น 2 กลุ่มวิวัฒนาการ คือ กลุ่มผึ้งโพรงตอนเหนือของประเทศไทย (ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง) และกลุ่มผึ้งตอนใต้ (ภาคใต้ และเกาะสมุย)
2. การศึกษาโดยใช้ PCR–RFLP ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ แสดงว่าผึ้งโพรงประเทศไทยแบ่งได้ 3 กลุ่มประชากร คือ กลุ่มผึ้งตอนเหนือ (ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง) กลุ่มผึ้งภาคใต้ และกลุ่มผึ้งบนเกาะสมุย ส่วนการศึกษาโดยใช้ microsatellite analysis แสดงว่าผึ้งในประเทศไทยแบ่งเป็น 4 กลุ่มประชากร โดยสามารถแยกประชากรของผึ้งจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือออกมาจากกลุ่มภาคเหนือ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ผลที่ได้แตกต่างกัน อาจเกิดจาก microsatellite analysis เป็นเทคนิคที่ตรวจได้ละเอียดกว่า PCR–RFLP หรือความแตกต่างนี้เกิดจากผึ้งตัวผู้ ทั้งนี้เพราะการศึกษาไมโทคอนเดรียลจะเป็นการศึกษาพันธุกรรมที่ถ่ายทอดจากทางแม่เท่านั้น ส่วนการศึกษาโดย microsatellite DNA ซึ่งอยู่ในนิวเคลียดีเอ็นเอ ทั้งฝ่ายพ่อและฝ่ายแม่จะมีส่วนในการถ่ายทอด
3. การศึกษาโดยใช้ PCR–RFLP ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ แสดงว่าผึ้งโพรงบนเกาะภูเก็ต อยู่ในกลุ่มเดียวกับผึ้งภาคใต้ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาโดยใช้การวิเคราะห์ลักษณะสัณฐาน Sylvester et al. (1998)
4. การพบ haplotype จำเพาะในกลุ่มประชากรต่างๆ ทำให้สามารถนำไปใช้เป็น molecular markers สำหรับโปรแกรมการอนุรักษ์สายผึ้งโพรงในประเทศไทยได้
5. ไมโทคอนเดรียลและนิวเคลียดีเอ็นเอทุกบริเวณหรือตำแหน่งที่ได้ศึกษาไว้ในที่นี้พบว่า มีความหลากหลาย (polymerphic) ดังนั้นสามารถนำไปใช้เป็น DNA markers สำหรับการคัดเลือกหรือติดตามเมื่อทำ selective breeding ได้

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 139024

## เอกสารอ้างอิง

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2532. ชีววิทยาของผึ้ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ต้นอ้อ, กรุงเทพ ฯ.

แสนนัด หงษ์ทรงเกียรติ. 2531. เทคโนโลยีการเลี้ยงผึ้ง. พิมพ์ครั้งที่ 1: คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพ ฯ.

Crozier R.H. and Y.C. Crozier. 1993. The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera:* Complete sequence and genome organization. *Genetics* 133: 97–117.

Deowanish, S., J. Nakamura, M. Matsuka and K. Kimura. 1996. MtDNA variation among subspecies of *Apis cerana* using restriction fragment length polymorphism. *Apidologic 27*: 407–413.

Estoup, A., L. Garnery, M. Solignac and J-M Cornuet. 1995. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera L.*) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics* 140: 679–695.

Estoup, A., M. Solignac, H. Harry and J-M Cornuet. 1993. Characterization of $(GT)_n$ and $(CT)_n$ microsatellites in two insert species: *Apis mellifera* and *bombus* terrestris. *Hucleic Acids Research* 21: 1427–1431.

Estoup, A., M. Solignacand and J–M Cornuet. 1994. Precise assessment of the number of patriline and of genetics relatedness in honey bee colonies. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 258: 1–7.

Felsenstein, J. 1993. Phylip (Phylogenetic inference Package) version 3.5 c. Distributed by the author; Department of Genetics, University of Washington, Seattle, USA.

Hall, H.G and D.R. Smith. 1991. Distinguisheng African and European honeybee matrilines using amplified mitochondrial DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America 88: 4548–4552.

Kocher, T.D., W.K. Thomas, A. Mayer, S.V. Edwards, S Paabo., F.X. Villablanca and A.C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 86: 6196–6200.

Laoaroon, S. 1998. Genetic differentiation among Thai honeybee *Apis cerana* using microsatellite variation and nuclear ribosomal RNA gene. Msc. Thesis. Chulalongkorn University, Thailand.

McElroy, D, P. Moran, E. Birminghan and I. Kornfield. 1991. REAP.An integrated environment for the manipulation and phylogenetic analysis of restriction data. *J. Heredity* 83: 157-158.

Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (v.1.2) 1 population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Heredity* 86: 248–249.

Rochrdanz, R.L. 1993. An improved primer for PCR amplification of mitochondrial DNA in a veriety of insect species. *Insect Molecular Biology* 2(2): 89-91.

Ruttner, F. 1988 Biogeography and Taxonomy of Honey Bee. Springer–Verlag,Berlin.

Sihanunthavong, D. 1996. Genetics variation in mitochodrial genes of honey bee *Apis cerana* in Thailand. Msc. Thesis. Chulalongkorn University, Thailand.

Sihanunthavong, S., S. Sittipraneed and S. Klinbunga. 1999. Mitochondrial DNA diversity and population structure of honey bee, *Apis cerana*, in Thailand. J. Apic. Res. 38 (3-4): 211–219

Sittipraneed, S., S. Laoaroon, S. Klinbunga and S. Wongsiri. 2001. Genetic differentiation of the honey bee (*Apis cerana)* in Thailand: evidence from microsatellite polymorphism. *J. Apicultural Research 40(1)*: (In press).

Sittipraneed, S., D. Sihanunthavong and S. Klinbunga. 2001. Genetic differentiation of the honey bee (*Apis cerana*) in Thailand revealed by polymorphism of a large subunit of mitochondrial ribosomal DNA. *Insects Soc.* 48: 01–07.

Smith, D.R. and W.M. Brown. 1988. Polymorphisms I mitochondrial DNA of European and Africanized honeybees (*Api mellefera*). *Experientia* 44: 257–260.

Smith, D.R. and R.H. Hagan. 1997. The biogeography of *Apis cerana* as revealed by mitochondrial DNA sequence data. *J. Kansas Entomdogical Society* 69(4): 294–310.

Songrum, O. 1997. Genetic variation of *Apis cerana* in Thailand inferred by PCR–RFLP analysis of the mitochondrial ATPase 6–ATPase 8 gene. Msc. Thesis. Chulalongkorn University, Thailand.

Sysvester, H.A., K. Limbipichai, S.Wongsiri, T.E. Rinderer and M. Mardan. 1998. Morphometric studies of *Apis cerana* in Thailand and the Malaysian Peninsula. *J. Apicultural Res.* 97: 137–145.

Wongsiri, S. and P. Tangkanasing. 1987. Mites, pets and beekeeping with *Apis cerana* and *Apis mellifera* in Thailand. *American Bee J.* 117: 500–503.

Wongsiri, S., P. Tangkanasing and H.A. Sylvester. 1989. *Biodiversity of honeybee in Thailand.* Bee Biology Research Unit. Chulalongkorn University.

# การศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาสกุล *Clarias* และ *Prophagorus* ในประเทศไทยโดยใช้เทคนิค Protein Electrophoresis และ RAPD-PCR

**อุทัยรัตน์ ณ นคร**

ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

**Abstract: Genetic Differentiation of Fishes in the Genera, *Clarias* and *Prophaqorus*, in Thailand, Using Protein Electrophoresis and RAPD-PCR**

This project was aimed to assess 1) genetic diversity within species of walking catfishes, *Clarias macrocephalus*, *Clarias batrachus* and *Prophagorus nieuhofii*, using isozyme analysis, 2) genetic differentiation between species of walking catfishes of the genera *Clarias* and *Prophagorus* using isozyme and RAPD-PCR analyses. Twenty-five natural and one hatchery populations of *Clarias macrocephalus* were analyzed for thirteen enzymes/protein. Among 18 loci resolved eight loci were polymorphic ($P_{95}$). Genetic variation within population was low in populations from upper north provinces. It was gradually increased in populations from lower north and upper central provinces. Populations from lower central, north-eastern and southern provinces had low genetic variation within populations. Average heterozygosity, percentage of polymorphic loci and number of alleles per locus were 0.046, 17.12% and 1.288 respectively. A hatchery population had high genetic variation ($H_o$=0.06, 27.8% polymorphic loci and 1.7 alleles/locus). Population structuring was distinct ($F_{st}$=0.162). The natural populations could be genetically separated into 2 groups. Average genetic distance (D) was 0.11±0.038 (ranged 0-0.04). Eighteen natural populations of *Clarias batrachus* in Thailand were analyzed for 14 enzyme/protein systems. Fourteen loci out of 22 loci resolved were polymorphic ($P_{95}$). Genetic variation within populations was low. Average heterozygosity, percentage of polymorphic loci and number of alleles per locus across populations were 0.025, 17.6% and 1.33 respectively. Population structuring was distinct ($F_{st}$=0.545). Two major population groups were identified. Average genetic distance between populations was 0.066±0.071 (ranged 0.001-0.204). Five natural populations of *Prophagorus nieuhofii* from southern part of Thailand were analyzed for 10 isozyme/protein systems which resulted in 9 polymorphic loci out of 20 loci resolved. Genetic variation within population was high. ($H_o$=0.041, percentage of polymorphic loci=22.0% and number of alleles per locus=1.4). Population structuring was significant ($F_{st}$=0.484). Average genetic distance was 0.08±0.10 (ranged 0.001-0.198). Genetic differentiation among four local species of *Clarias* catfishes and one introduced species (*Clarias gariepinus*) was conducted based on analyses of 10 enzyme/protein systems which resulted in 13 loci resolved. Substantial number of diagnostic loci were identified. Genetic distance between species was high and ranged between 0.346 to 1.181. A dendrogram based on Nei (1978) genetic distance separated the 5 species into 3 groups. Cma and Cba, Cme and Cga and Csp. Five out of 40 RAPD primers (OPA-08, -17, OPB-05, 06 and -10) can be used for assessment of genetic diversity of *C. macrocephalus*, *C. batrachus*, *C. meladerma*, *C. gariepinus* and *Prophagorus nieuhofii*. Average genetic distance between species was 0.1688 (0.1078-0.2545).

**Key words:** genetic diversity, walking catfish, isozyme

## บทนำ

ปลาดุก (*Clarias* sp.) เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับคนไทยมากที่สุดชนิดหนึ่ง ในประเทศไทยมีรายงานว่ามีอยู่ 5 ชนิด (Smith, 1945) แต่ที่พบทั่วไปมี 2 ชนิด คือ ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) และปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*) แม้จะพบปลาดุกอุยได้ทั่วไป แต่สถานภาพนับว่าน่าเป็นห่วง เนื่องจากมีความเป็นไปได้สูงที่จะเกิดการปนเปื้อนทางพันธุกรรมจากการผสมกลับกับลูกผสมปลาดุกอุย-ปลาดุกยักษ์ (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) ที่เล็ดลอดจากบ่อเลี้ยงสู่ธรรมชาติ สำหรับปลาดุกด้านเป็นปลาอีกชนิดหนึ่งที่เคยพบทั่วไป แต่ปัจจุบันมีจำนวนลดลงมากจนถูกจัดให้เป็นชนิดที่ถูกคุกคาม (threaten to extinction) (สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, 2540) ปลาสกุล *Clarias* อีก 3 ชนิด คือ ปลาดัก *C. meladerma* ปลามด *C. tyesmanni* และปลาดุก *C. leiacanthus* มีถิ่นที่อยู่ค่อนข้างจำเพาะจึงพบได้ไม่บ่อยนัก นอกจากปลาสกุล *Clarias* แล้ว ในประเทศไทยยังมีปลาอีกสกุลหนึ่งที่มีรูปร่างลักษณะคล้ายคลึงกับปลาดุก เป็นปลาในสกุล *Prophagorus* ซึ่งมีรายงานว่ามีอยู่ 2 ชนิด คือ *P. nieuhofii* (Cuv. and Val., 1840) และ *P. cataractus*

(Fowler, 1939) ปัจจุบันนักอนุกรมวิธานได้จัดปลาสกุลนี้เป็นสกุล *Clarias* ธรรมชาติของปลาดุกลำพันจะอาศัยตามพรุต่างๆ โดยเฉพาะภาคใต้ ปัจจุบันพบว่าพรุหลายแหล่งเสื่อมโทรมลงมาก จนอาจทำให้ปลาดุกลำพันสูญพันธุ์ได้ในที่สุด

เหตุผลดังกล่าว นำไปสู่การสนับสนุนให้วางแผนการอนุรักษ์และจัดการปลากลุ่มปลาดุกอย่างเร่งด่วน ซึ่งจำเป็นต้องใช้ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาแต่ละชนิดมาเป็นข้อมูลพื้นฐาน นอกจากนั้นการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของปลาแต่ละชนิด จะช่วยยืนยันการจัดแยกชนิดปลาสกุล *Clarias* และ *Prophagorus* ซึ่งเดิมแยกตามลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียว วิธีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมที่แพร่หลายมากที่สุดวิธีหนึ่ง คือ การศึกษาความหลากหลายของอัลโลไซม์ เพราะการแสดงออกของยีนส่วนใหญ่เป็นแบบโคโดมิแนนท์ และสามารถศึกษายีนได้จำนวนมาก เทคนิค RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA) เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่ใช้ศึกษาความหลากหลายในระดับ DNA โดยการเพิ่มปริมาณ DNA บนจีโนม ด้วยไพรเมอร์ที่เป็น DNA เส้นสั้นๆ เพียงหนึ่งไพรเมอร์ ซึ่งมีลำดับเบสไม่เจาะจง จึงไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสของ DNA เป้าหมาย (William et al., 1990)

***ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างชนิดของปลากลุ่มปลาดุก***

ความผันแปรระหว่างชนิดในระดับความถี่ของยีนในปลาสกุล *Clarias* มีการศึกษาอยู่บ้าง โดยการศึกษาความผันแปรของอัลโลไซม์ จากการศึกษาความผันแปรของยีน 13 ตำแหน่ง ของปลาสกุล *Clarias* ในทวีปอาฟริกา 3 ชนิด คือ *Clarias ebriensis*, *C. gariepinus* และ *C. anguillaris* พบว่า *C. ebriensis* มีพันธุกรรมที่แตกต่างจากปลาอีก 2 ชนิด ในระดับสูง (Teugels et al., 1992) โดย *C. ebriensis* และ *C. anguillaris* มียีน 1 ตำแหน่ง ที่ฟิกซ์ที่อัลลิลต่างกัน *C. anguillaris* และ *C. gariepinus* แตกต่างกันในระดับความถี่ของยีน

Lawonyawut (1995) ได้เปรียบเทียบปลาดุกยักษ์ (*C. gariepinus*) ซึ่งนำเข้าจากทวีปอาฟริกา และปลาดุกอุย (*C. macrocephalus*) พบว่าทั้งสองชนิดนี้แตกต่างกันที่ยีน 6 ตำแหน่ง คือ *ADA*, GPI-2*, IDHP-2*, LDH-1*, sMDH-2** และ *SOD** ปลาดุกยักษ์แตกต่างจากปลาดุกด้านที่ยีน 6 ตำแหน่ง คือ *GPI-1**, *2**, *IDHP-1*, LDH-2*, sMDH-2** และ *XOD** อย่างไรก็ตาม จำนวนยีนที่แสดงความแตกต่างนี้อาจมีจำนวนมากกว่าความเป็นจริง เพราะประชากรปลาที่ใช้ศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำกว่าประชากรทั่วไป

***ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในชนิดของปลากลุ่มปลาดุก***

จากการศึกษายีนควบคุมไอโซไซม์ 22 ตำแหน่ง ในปลาดุกยักษ์ พบว่าประชากรปลาดุกยักษ์ในธรรมชาติมีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรค่อนข้างสูง (เฮตเทอโรไซโกซิตี-$H_o$=0.0467) ขณะที่ประชากรจากโรงเพาะฟักมีค่า $H_o$ ต่ำ (0.003) (Van der Bank et al., 1992) Na–Nakorn et al. (1998) ศึกษายีนควบคุมไอโซไซม์ 19 ตำแหน่ง (13 ไอโซไซม์) ในประชากรปลาดุกอุยจากธรรมชาติ 4 ประชากร พบว่าประชากรจากภาคเหนือ และกลาง มีค่า $H_o$ สูง (0.08 และ 0.07 ตามลำดับ) ส่วนประชากรจากภาคใต้ 2 ประชากร มีค่า $H_o$ ต่ำ (0.04-0.05) มีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับต่ำ (D=0) ประชากรจากภาคเหนือและภาคกลางมีพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกัน (D=0.004) และแตกต่างจากประชากรจากภาคใต้มาก (D=0.018)

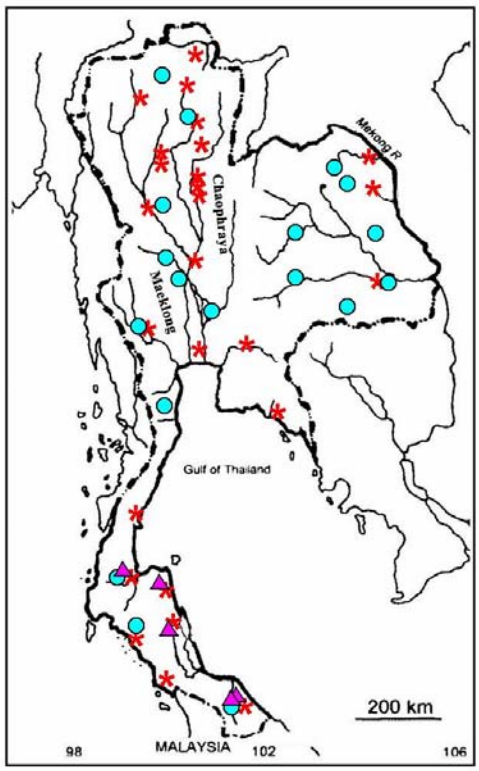
ในปลาประชากรเดียวกันนั้น Na–Nakorn et al. (1999) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยศึกษาจากความหลากหลายของไมโครแซเทลไลท์ โลไซ (microsatellite loci) 4 ตำแหน่ง พบว่าประชากรทั้ง 4 มีค่า $H_o$ สูง และมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก ($H_o$=0.620–0.718) ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรมีค่าสูง (D=0.230-0.535) ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างประชากรไม่สอดคล้องกับสภาพภูมิประเทศ

สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในชนิดของปลา 3 ชนิด คือ ปลาดุกอุย ปลาดุกด้าน และปลาดุกลำพันในประเทศไทย โดยวิธีศึกษาความผันแปรของอัลโลไซม์ และศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดของปลาสกุล *Clarias* ด้วยวิธีศึกษาความผันแปรของอัลโลไซม์ และ RAPD-PCR

## วิธีการ

***การเก็บตัวอย่าง*:** ดำเนินการระหว่างเดือน พ.ย. 2540-เม.ย. 2541 โดยปลาดุกอุย (26 ประชากร) และ

ปลาดุกด้าน (18 ประชากร) เก็บตัวอย่างจำนวนหนึ่งจากแหล่งน้ำธรรมชาติโดยตรง บางประชากรจะซื้อจากตลาด ปลาดุกลำพัน (5 ประชากร) ซื้อจากปลาที่ชาวบ้านรวบรวมโดยใช้เบ็ดและลอบ ปลาดัก (1 ประชากร) จับจากลำธารซึ่งเป็นสาขาของคลองชัน จังหวัดสระแก้ว มีทางน้ำติดต่อกับวนอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ *Clarias* sp. รวบรวมได้จากจังหวัดนครพนม และปลาดุกยักษ์ (*Clarias gariepinus*) ซึ่งเป็นปลาพื้นเมืองของอาฟริกา ซื้อจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดฉะเชิงเทรา รายละเอียดแหล่งที่มาของปลาประชากรต่างๆ แสดงไว้ในภาพที่ 1 ตัวอย่างทั้งหมดลำเลียงขณะมีชีวิตมาที่ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จากนั้นทำการแยกชนิดโดยอาศัยลักษณะภายนอกที่สำคัญ (Smith, 1945) แล้วเก็บตัวอย่างแช่ไว้ในตู้แช่เย็น -40°C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์



ภาพที่ 1. A map showing sampling sites of *Clarias macrocephalus* (*), *C. batrachus* (O), and *Prophagorus nieuhofii* (△)

***วิธีการวิเคราะห์ไอโซไซม์/โปรตีน*:** แยกไอโซไซม์/โปรตีน ด้วยวิธีของ Hara and Na-Nakorn (1996) การย้อมเอนไซม์ทำตามวิธีการดัดแปลงจากวิธีของ Morizot and Schmidt (1990) ส่วนชื่อยีนกำหนดตามแนวทางของ Shaklee et al. (1990) คำนวณค่าต่างๆ ได้แก่ ความถี่อัลลิล (allelic frequency) ทดสอบสมดุลฮาร์ดี ไวน์เบิร์ก อัตราส่วนยีนในสภาวะหลากรูปแบบ (polymorphic loci, $P_{95}$) จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง (number of alleles per locus, N) ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) ศึกษาความแตกต่างของประชากรโดย F-statistics คำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ตามวิธีของ Nei (1978) จัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic relationship) โดยวิธี Unweighted Pair Group Arithmetic Average (UPGMA) ซึ่งข้อมูลทั้งหมดนี้จะใช้โปรแกรม GENEPOP (Raymond and Rousset, 1995) และ BIOSYS-1 (Swofford and Selander, 1989 คำนวณดัชนีความคล้ายคลึง (index of similarity) ตามสูตรของ Lynch, 1990 และ j ตามลำดับ; $S_{ij}$=ค่าเฉลี่ยของความคล้ายคลึงระหว่างปลาที่สุ่มจากประชากร i และ j และคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรม (D) (Lynch, 1991) โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ TFPGA version 1.3 (Miller, 1997)

## ผลการวิจัย

### *ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกอุย Clarias macrocephalus ในประเทศไทย*

จากจำนวนยีนที่ศึกษาทั้งสิ้น 18 ตำแหน่ง พบยีนในสภาพหลากรูป 8 ตำแหน่ง (ตารางที่ 1)

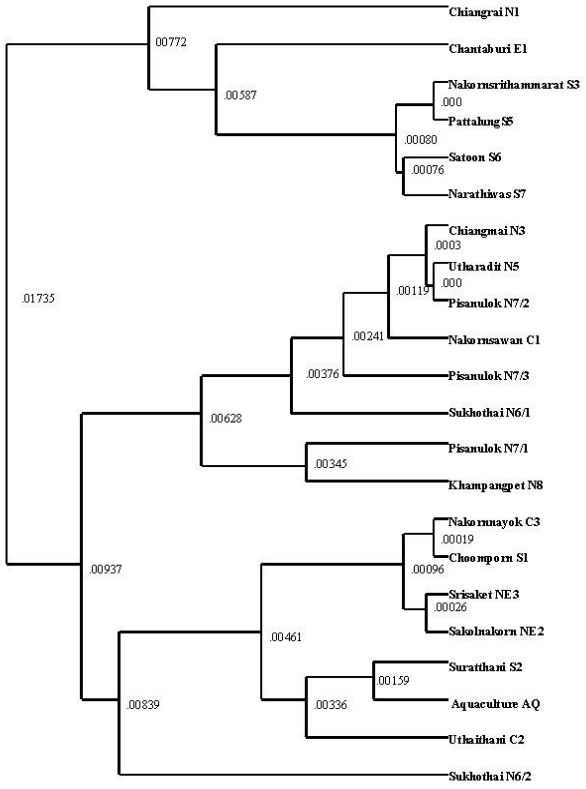
*ความหลากหลายภายในประชากร:* จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง มีค่าตั้งแต่ 1.2-1.7% ยีนในสภาพหลากรูปมีค่าระหว่าง 0-27.8% (ตารางที่ 2) โดยทั้งสองค่ามีแนวโน้มจะมีค่าสูงในประชากรจากภาคเหนือตอนล่างและภาคกลางตอนบน มีค่าต่ำในประชากรจากภาคใต้ และมีค่าใกล้เคียงกับที่เคยรายงานไว้โดย Na-Nakorn et al. (1998) ซึ่งมีค่า 1.27 และ 18.42 ตามลำดับ ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี ($H_o$) มีค่าระหว่าง .006±.004 ถึง .075±.028 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ .046 (ตารางที่ 3) ซึ่งจัดว่าค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับรายงานของ Na-Nakorn et al. (1998) ($H_o$=.061) ค่าเฉลี่ยนี้มีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของปลากระดูกแข็งทั่วไปซึ่งมีค่า .05 (Nevo, 1978; Powell, 1975; Fujio and Kato, 1979; Avise and Aquadro, 1982) แนวโน้มค่า $H_o$ มีค่าสูงมากในประชากรจากจังหวัดภาคเหนือตอนล่าง (.061-.075) ประชากรจากภาคเหนือตอนบนยกเว้นจังหวัดเชียงรายและแพร่ และภาคกลางตอนบน มีค่า $H_o$ในระดับปานกลาง (.041-.056) $H_o$ มีค่าต่ำในประชากรจากภาคอีสาน ภาคใต้ และภาคตะวันออก (.025-.045; 006-.035 และ .018 ตามลำดับ โดยไม่รวม

ประชากรจากจังหวัดตรัง) ประชากรจากโรงเพาะฟัก (AQ) มีค่า $H_o$ สูง (.06) ค่า $H_o$ ที่สูง แสดงว่ามีขนาดประชากร (effective population size) ใหญ่ ซึ่งสอดคล้องกับสภาพความเป็นจริงที่ว่าจังหวัดเหล่านี้มีแหล่งน้ำธรรมชาติมากมาย ยังอยู่ในสภาพสมบูรณ์มีน้ำตลอดปี ประชากรลุ่มน้ำโขง และประชากรจากภาคใต้ทั้งหมดมีค่า $H_o$ ต่ำ โดยทางทฤษฎีแล้วอาจเกิดจากการที่มีประชากรขนาดเล็ก และ/หรือการเกิดสภาพคอขวด (bottle neck) ทางพันธุกรรม (Hartl and Clark, 1989) หรืออาจเกิดจากมีการปนเปื้อนจากประชากรโรงเพาะฟัก ในสภาพความเป็นจริงปลาดุกอุยจะขึ้นมาแพร่พันธุ์วางไข่ตามทุ่งนาในฤดูฝน เมื่อถึงฤดูแล้งก็จะลงไปรวมอยู่ในหนองน้ำ ดังนั้นหากหนองน้ำแห้งตามธรรมชาติ หรือถูกวิดจับโดยมนุษย์ จำนวนพ่อแม่ที่จะแพร่พันธุ์ในฤดูต่อไปจะเหลือน้อย มีผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำลง แม้จำนวนพ่อแม่พันธุ์จะเพิ่มในภายหลัง ค่า $H_o$ ก็จะไม่เพิ่ม สำหรับภาคใต้นั้น มีคาบสมุทรที่ยื่นยาวออกไป ประกอบกับพื้นที่เป็นภูเขามากมาย (กองปกครองท้องที่, 2535) จึงเป็นปัจจัยจำกัดการแพร่กระจายของประชากร มีผลลดขนาดของประชากร (Hartl and Clark, 1989) ทำให้ค่า $H_o$ ต่ำ ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานของ Na-Nakorn et al. (1998) ในปลาดุกอุย และ Takata et al. (1993) ซึ่งพบแนวโน้มเช่นเดียวกันในปลาข้าวสาร (*Oryzias minutillus*)

ประชากรจากภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแม้จะถูกนำมาเพาะพันธุ์ต่อเนื่องกันประมาณ 7 ชั่วอายุแล้ว แต่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เนื่องจากเป็นประชากรที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างประชากรต่างๆ ถึง 6 ประชากร นอกจากนั้นยังมีการจัดการพ่อแม่พันธุ์ที่ดี ลักษณะเช่นเดียวกันนี้มีรายงานในปลาดุกยักษ์ (Teugel et al., 1992) ประชากรโรงเพาะฟักทั่วๆ ไปนั้นมีเฮตเทอโรไซโกซิตีต่ำมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลาดุกอุยมีค่าเท่ากับ 0 (Daud et al., 1989; Lawonyawut, 1995) ประชากรส่วนใหญ่ไม่อยู่ในสมดุลของฮาร์ดี ไวน์เบอร์ก โดยเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางที่มีโฮโมไซโกตมากกว่าค่าทางทฤษฎี

*ความหลากหลายระหว่างประชากร*: $F_{st}$ รวมมีค่า 0.1628 และมีความสำคัญยิ่งทางสถิติ แสดงว่าประชากรปลาดุกอุยในประเทศไทยแบ่งออกเป็นประชากรย่อยที่มีความแตกต่างอย่างชัดเจน

ระยะห่างทางพันธุกรรม (ตารางที่ 3) มีค่าระหว่าง 0-.04 ประชากรปลาดุกอุยแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ในระดับ local race (d>.01) (Nei, 1988) (ภาพที่ 2) กลุ่มแรก ประกอบด้วยประชากรจากภาคใต้เป็นส่วนใหญ่ พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมสอดคล้องกับระยะทางและสภาพภูมิศาสตร์ ปลาประชากรจากจังหวัดจันทบุรีถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้เช่นกัน ซึ่งเป็นสิ่งที่เป็นไปได้แม้ระยะทางจะห่างกัน แต่การที่ปลาต้องปรับตัวให้เข้ากับสภาพภูมิอากาศของภาคตะวันออกซึ่งคล้ายคลึงกับภาคใต้ อาจเป็นสาเหตุให้เกิดความคล้ายคลึงกันในระดับหนึ่ง ส่วนประชากรจากเชียงรายนั้น ไม่น่าจะอยู่ในกลุ่มเดียวกับประชากรจากภาคใต้ โดยสภาพทางภูมิศาสตร์ เชียงรายจัดเป็นพื้นที่ในลุ่มน้ำโขง แต่จากการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรในปลาข้าวสาร (Takata et al.,1993) ปลาดุกอุย (Na-Nakorn et al.,1998) และปลาช่อน (Hara et al.,1998) ได้ผลสอดคล้องกันว่า ประชากรปลา




ภาพที่ 2. UPGMA dendrogram derived from Nei's genetic distance for 22 population of *Clarias macrocephalus*, based on 18 isozyme loci. Abbreviations as is table 1.

จากจังหวัดเชียงรายถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับปลาจากลุ่มน้ำเจ้าพระยา ซึ่งแตกต่างจากประชากรภาคใต้อย่างชัดเจน จึงเป็นไปได้ว่า ประชากรนี้อาจถูกปนเปื้อนจากประชากรโรงเพาะฟัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรงเพาะฟักของสถานีประมงจังหวัดเชียงราย ซึ่งคงขนย้ายพ่อแม่ปลาจากภาคใต้มาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ ข้อสันนิษฐานนี้สอดคล้องกับค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี ซึ่งลดลงค่อนข้างมาก และในกลุ่มสอง แบ่งเป็น 2 กลุ่มประชากรย่อยในระดับเกือบเป็น local race (D=0.00937) โดยในกลุ่มแรกมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในภาพรวมสอดคล้องเป็นอย่างดีกับสภาพทางภูมิศาสตร์ แต่เมื่อพิจารณาอย่างละเอียด พบว่ามีความสับสนอยู่บ้าง เช่น ประชากรจากอุตรดิตถ์ ซึ่งมีแม่น้ำน่านไหลผ่านน่าจะมีความคล้ายคลึงกับประชากรในแม่น้ำน่านด้วยกัน (พิษณุโลก-วัดโบสถ์ และพิษณุโลก-พรหมพิราม) มากกว่าประชากรจากแม่น้ำยม (พิษณุโลก-บางระกำ) ประชากรจากเชียงใหม่น่าจะมีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับประชากรอื่นๆ มากกว่าที่ปรากฏในผังความสัมพันธ์ คำอธิบายในเรื่องนี้ คือ มีการขนย้ายปลาดุกอุยธรรมชาติจากแถบจังหวัดสุโขทัย จังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดนครสวรรค์ เพื่อขายในตลาดใกล้เคียงเป็นจำนวนมาก ประชากรที่ซื้อจากตลาดแหล่งหนึ่งอาจถูกขนย้ายมาจากอีกที่หนึ่ง และในกลุ่มสองนั้นประกอบด้วยประชากรจากหลายๆ ท้องที่ 8 ประชากร ซึ่งอาจแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อยๆ มีแนวโน้มว่าปลาในกลุ่มย่อยที่ 2 จะมีการปนเปื้อนทางพันธุกรรมจากปลาต่างถิ่น ทำให้ความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ได้ไม่สอดคล้องกับระยะทางภูมิศาสตร์

พบยีนที่เป็นลักษณะเฉพาะของปลาดุกยักษ์ (*Clarias gariepinus*) คือ *LDH-1* 30* ในปลา 3 ประชากร คือ จากจังหวัดแพร่ (ความถี่ 0.033) กำแพงเพชร (0.014) และประชากร AQ (0.012) และยีน *sMDH-2* 130* ในประชากรจากจังหวัดสุโขทัย (0.043) และพิษณุโลก-พรมพิราม (0.013) การพบยีนที่เป็นลักษณะเฉพาะของปลาดุกยักษ์ในปลาดุกอุยเป็นสิ่งที่น่าตกใจ แม้จะพบในตัวอย่างเพียงเล็กน้อยแต่ก็แสดงถึงความเป็นไปได้ที่ปลาดุกยักษ์ และ/หรือ ลูกผสมระหว่างปลาดุกยักษ์กับปลาดุกอุย จะสามารถผสมกับปลาดุกอุยในธรรมชาติ ปรากฏการณ์นี้จะนำไปสู่ introgressive hybridization ซึ่งจะเป็นสาเหตุของการสูญพันธุ์ในที่สุด (Avise et al.,1997)

***ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกด้าน Clarias batrachus ในประเทศไทย***

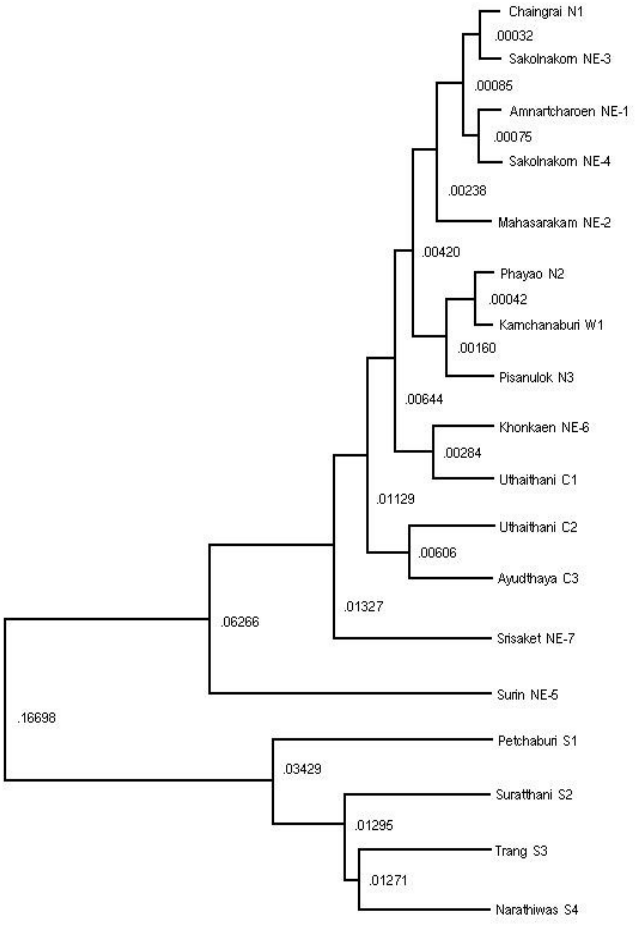
จากการวิเคราะห์ไอโซไซม์ 13 ระบบ และโปรตีน 1 ระบบ ในปลาดุกด้าน 18 ประชากร สามารถกำหนดยีนที่ควบคุมได้ทั้งสิ้น 22 ตำแหน่ง ซึ่งจัดเป็นยีนที่มีความหลากหลาย ($P_{95}$) 14 ตำแหน่ง (ตารางที่ 4)

*อัลลิลที่เป็นลักษณะประจำท้องถิ่น*: พบอัลลิลที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะท้องที่ 5 อัลลิล ได้แก่ *IDHP* 115* (สุราษฎร์ธานี), *MDH-2* 80* (พิษณุโลก), *PGDH-1* 110* (ตรัง), *IDDH-1* 125* (นราธิวาส) และ **170* (ตรัง) นอกจากนั้นยังพบเฉพาะบางภูมิภาคอีก 2 อัลลิล ได้แก่ *ADH* 60* พบในประชากรจากภาคอีสาน 2 ประชากร และ *sAAT-2* 80* พบในประชากรจากภาคใต้ 2 ประชากร นอกจากนี้ยังพบประชากรจากจังหวัดเพชรบุรี และประชากรจากภาคใต้ทั้ง 3 ประชากร มีความถี่ของอัลลิล *MEP-1** 80 สูงมาก ในขณะที่แทบจะไม่พบอัลลิลนี้ในประชากรอื่นๆ ทั้ง 4 ประชากรข้างต้น ฟิกซ์ (มีอัลลิลที่มีความถี่เท่ากับ 1) ที่อัลลิล EST-1* 115 และ EST-2* *b* ซึ่งพบในประชากรอื่นในความถี่ต่ำ การพบอัลลิลประจำท้องถิ่นนี้แสดงให้เห็นว่าประชากรเหล่านี้ไม่มีการผสมพันธุ์กับประชากรอื่นๆ เป็นเวลานาน อัลลิลเหล่านี้สามารถใช้เป็นฉลากติดตามการผสมข้ามระหว่างประชากรได้ในอนาคต ประชากรจากภาคใต้ฟิกซ์ที่ยีน 2 ตำแหน่ง โดยที่อัลลิลเหล่านี้มีความถี่ต่ำมากในประชากรอื่นๆ อาจเป็นไปได้ว่าอัลลิลที่หายไปจากประชากรนั้นเป็นอัลลิลที่ไม่มีความจำเป็นต่อการปรับตัวในสภาพสิ่งแวดล้อมในภาคใต้ นอกจากนี้ยังแสดงว่าประชากรเหล่านี้มีการผสมข้ามกับประชากรในภาคอื่นๆ น้อยมาก

*ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร*: ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกด้านมีค่าค่อนข้างต่ำ (ตารางที่ 5) โดยจำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง เฉลี่ยเท่ากับ 1.33% ยีนในสภาวะหลากรูปแบบ (polymorphic loci) ($P_{95}$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.6 ค่า $H_o$ เฉลี่ย ทุกประชากรเท่ากับ 0.025 และมีค่าสูงสุด .048$\pm$.021 ในประชากรจากจังหวัดอุทัยธานี มีค่าต่ำสุดในประชากรจากจังหวัดอำนาจเจริญ (.007$\pm$.005) ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการคำนวณ ($H_e$) มีค่าเฉลี่ย .048 และมีค่าสูงกว่า $H_o$ ในทุกประชากร การที่ประชากรปลาดุกด้านในประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ อาจมีสาเหตุมาจากมีประชากรขนาดเล็ก และ/หรือ เคยประสบสภาวะคอขวดทาง

พันธุกรรม (genetic bottle-neck) ในชั่วอายุหนึ่งหรือหลายชั่วอายุ ความหลากหลายที่ต่ำนี้อาจนำไปสู่การสูญพันธุ์ในที่สุด (Van Treuren et al., 1991) อย่างไรก็ตาม ปลาบางประชากรยังมีระดับ $H_o$ ใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยในปลากระดูกแข็ง คือ ประชากรจากจังหวัดอุทัยธานี ($H_o$=.048) รองลงมา ได้แก่ ประชากรจากจังหวัดนราธิวาส ($H_o$=.038) และเพชรบุรี ($H_o$=.037) ตามลำดับ ค่าเฉลี่ย $H_o$ ของประชากรปลาดุกด้านจากภาคต่างๆ แสดงความแตกต่างค่อนข้างชัดเจน โดยปลาจากภาคใต้และภาคกลางมีค่าค่อนข้างสูงกว่าประชากรจากภาคอีสาน เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกอุยซึ่งเป็นปลาชนิดที่มีแหล่งอาศัยคล้ายคลึงกัน ปลาดุกด้านมีค่า $H_o$ ต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของปลาดุกอุยมาก แต่สังเกตว่าจำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่งมีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีปลาบางประชากรมีค่าดังกล่าวสูงถึง 1.7 (สว่างดินแดน), 1.6 (อยุธยา) และ 1.5 (นราธิวาส) ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ยีนในสภาพหลากรูปแบบมีค่าค่อนข้างสูงกว่าค่าเฉลี่ยที่พบในปลาดุกอุย (17.16% ในปลาดุกด้านเทียบกับ 12.71% ในปลาดุกอุย) ประชากรปลาดุกอุยจากภาคใต้มีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำกว่าปลาดุกอุยจากภาคอื่นๆ แต่ในปลาดุกด้านกลับมีแนวโน้มตรงกันข้าม ประชากรส่วนใหญ่ไม่อยู่ในสมดุลของฮาร์ดี ไวน์เบอร์ก โดยเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางที่มีโฮโมไซโกตมากกว่าค่าทางทฤษฎี

*ความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากร*: ประชากรปลาดุกด้านในประเทศไทยแบ่งออกเป็นประชากรย่อย (ค่า Fst เฉลี่ยเท่ากับ 0.545 และมีนัยสำคัญทางสถิติ) ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรมีค่าเฉลี่ย 0.066 (ตารางที่ 6) ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรในแต่ละภาคมีค่าเฉลี่ยระหว่าง .004 (ภาคเหนือ) ถึง .06 (ภาคกลาง) ประชากรจากจังหวัดเพชรบุรีมีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากประชากรภาคกลางอื่นๆ อย่างชัดเจน หากตัดประชากรจากเพชรบุรีออก ค่า D เฉลี่ยสำหรับภาคกลางจะต่ำลงเหลือเพียง .007 ช่วงของค่า D จะเป็น .004 (ภาคเหนือ) ถึง .024 (ภาคใต้) ส่วนค่า D ของกลุ่มประชากรต่างภาคมีค่าเฉลี่ยสูงระหว่างภาคใต้กับภาคอีสาน (D=.159) ภาคใต้กับภาคเหนือ (D=0.143) ภาคใต้กับภาคกลาง (D=0.135) ส่วนค่า D เฉลี่ยระหว่างประชากรภาคอีสานและภาคกลาง ภาคอีสานและภาคเหนือ ค่าเท่ากับ .039 และ .019 ตามลำดับ ส่วนปลาภาคเหนือและภาคกลางมีค่า D เฉลี่ย .035 ค่า D (Nei, 1978) เฉลี่ยระหว่างประชากรปลาดุกด้านในประเทศไทย (D=.066) มีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยที่พบในปลาดุกอุย ประชากรจากภาคใต้และจากจังหวัดเพชรบุรี มีความแตกต่างจากประชากรอื่นๆ ในระดับสูง โดยมีค่า D สูงกว่า 0.1 แสดงความแตกต่างกันในระดับชนิดย่อย (sub species) (Nei, 1988) สิ่งนี้อาจแสดงว่าปลาดุกด้านเป็นชนิดพันธุ์ที่เกิดขึ้นในภูมิภาคนี้มาก่อนปลาดุกอุย และมีการแยกออกเป็นประชากรย่อยๆ ก่อน



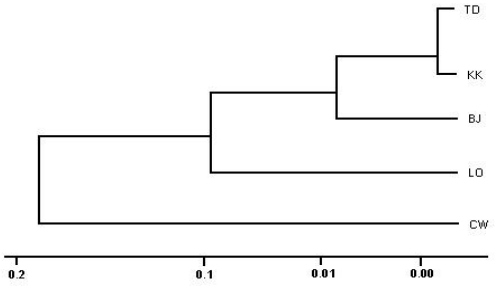

ภาพที่ 3. UPGMA dendrogram derived from Nei's genetic distance for 18 population of *Clarias batrachus*, based on 22 isozyme loci. Abbreviations as in table 2.

*ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม*: ประชากรปลาดุกด้านแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (ภาพที่ 3) โดยมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับชนิดย่อย (subspecies) กลุ่มแรก ประกอบด้วยประชากรจากภาคใต้ทั้งหมด และจังหวัดเพชรบุรี พบว่าค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรในกลุ่มนี้มีค่าสูง และมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ค่อนข้าง

สอดคล้องกับระยะทางระหว่างประชากร ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการที่จำนวนประชากรจากภาคใต้มีน้อย ทั้งยังมาจากถิ่นอาศัยที่ห่างไกลกัน จึงสามารถให้ภาพรวมของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ชัดเจน ทั้ง 4 ประชากร มีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับประชากร (D>.01) ประชากรที่เหลือ 14 ประชากรเกาะกลุ่มแยกออกไป และมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ไม่สอดคล้องกับสภาพทางภูมิศาสตร์นัก ไม่ว่าจะเป็นเรื่องของลุ่มน้ำหรือระยะทาง แสดงว่าประชากรเหล่านี้อาจไม่มีโอกาสผสมข้ามกัน (reproductive isolate) เนื่องจากอาศัยในหนองน้ำที่ไม่ทางติดต่อถึงกัน แต่ละประชากรมีวิวัฒนาการในทิศทางของตนเอง ทำให้ประชากรที่แม้จะอยู่ใกล้กันก็อาจมีพันธุกรรมแตกต่างกันโดยสิ้นเชิงได้ ประกอบกับประชากรจำนวนหนึ่งมีขนาดเล็ก จึงทำให้ความถี่ของยีนในแต่ละชั่วอายุเปลี่ยนแปลงไปอย่างไม่มีทิศทาง (random genetic drift) ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างประชากรไม่มีแบบแผนที่แน่นอน

***ความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกลำพัน Prophagorus nieuhofii ในประเทศไทย***

ปลาดุกลำพันชนิดที่นำมาศึกษา คือ *Prophagorus nieuhofii* (Cuv. and Val., 1840) การวิเคราะห์ไอโซไซม์ 12 ชนิด และโปรตีน 1 ชนิด สามารถตรวจสอบยีนที่ควบคุมได้ 20 ตำแหน่ง โดย 9 ตำแหน่งอยู่ในสภาวะหลากรูปแบบ ($P_{95}$) ยีน 2 ตำแหน่ง คือ *ACP** และ *GPI-2** แสดงความแตกต่างระหว่างปลาจากพรุฉวางกับประชากรอื่นๆ โดยประชากรจากพรุฉวางฟิกซ์ที่อัลลิล *ACP** 60 และ *GPI-2** 65 ในขณะที่ประชากรอื่นๆ ฟิกซ์ที่อัลลิล *ACP** 100 และ *GPI-2** 100 (ตารางที่ 7)




ภาพที่ 4. A UPGMA dendrogram of Nei's unbiased genetic distance in five populations of *Prophagorus nieuhafii* in southern Thailand.

*ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร:* (ตารางที่ 8) จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่ง ในประชากรปลาดุกลำพันมีค่าเท่ากับ 1.4±0.07 ซึ่งจัดว่าเป็นค่าที่ค่อนข้างสูง โดยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 1.3±0.1 ในประชากรจากพรุควนเคร็ง และค่าสูงที่สุดเท่ากับ 1.5 ในประชากรจากพรุลาว เปอร์เซ็นต์ยีนในสภาวะหลากรูปแบบ มีค่าสูงที่สุดในประชากรจากพรุลาวและพรุฉวาง (30.0%) และค่าต่ำสุดในประชากรจากพรุบาเจาะ (10.0%) และมีค่าเฉลี่ย 22.0±8.37 ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากค่าสังเกต ($H_o$) มีค่าเฉลี่ย 0.041±0.019 โดยมีค่าสูงที่สุดในประชากรจากพรุฉวาง (0.065±0.033) และต่ำที่สุดในประชากรจากพรุบาเจาะ (0.022±0.014) ส่วนค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีจากค่าทฤษฎี ($H_e$) มีค่าสูงกว่าค่าสังเกตในทุกประชากร โดยมีค่าเฉลี่ย 0.061±0.035 ในภาพรวมปลาดุกลำพันมีค่าความหลากหลายภายในประชากรใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยในปลากระดูกแข็ง แต่มีค่าต่ำกว่า *P. cataractus* ประชากรในประเทศมาเลเซีย (Daud et al.,1989) ซึ่งอาจเป็นความแตกต่างระหว่างชนิด หรืออาจเป็นเพราะความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรของปลาดุกลำพันลดน้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับปลาสกุล *Clarias* ที่พบแพร่หลาย พบว่าปลาดุกลำพันมีค่า $H_o$ เฉลี่ยต่ำกว่าปลาดุกอุย แต่สูงกว่าปลาดุกด้าน และมีสัดส่วนยีนในสภาพหลากรูปแบบสูงกว่า จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อตำแหน่งใกล้เคียงกัน

สถานภาพทางพันธุกรรมของประชากรเหล่านี้แตกต่างกัน ปลาจากพรุบาเจาะซึ่งชุกชุมพอประมาณ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำที่สุด คาดว่าอาจเกิดเนื่องจากมีจำนวนประชากรลดน้อยลงมากในชั่วอายุหนึ่งหรือติดต่อกัน (Hedrick, 1985) ซึ่งอาจเกิดขึ้นขณะที่พรุบาเจาะหมดสภาพการเป็นพรุ แต่เมื่อพื้นที่น้ำเพิ่มขึ้นอีกครั้งหนึ่ง เพราะมีการขุดคูขึ้นมาใหม่ก็สามารถปรับตัวขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนขึ้นมา แต่ก็ไม่อาจฟื้นคืนสภาพของพันธุกรรมให้เหมือนเดิมได้ ประชากรจากพรุโต๊ะแดง และพรุควนเคร็ง มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำเช่นกัน พรุโต๊ะแดงนั้นแม้จะมีพื้นป่าพรุกว้าง แต่เมื่อถึงหน้าแล้งจะเหลือพื้นที่น้ำไม่มากนัก มีผลต่อขนาดประชากรของปลาดุกลำพัน ส่วนประชากรจากพรุควนเคร็งนั้น อาจเป็นประชากรเดียวกับประชากรจากพรุโต๊ะแดง ประชากรจากพรุลาว จังหวัดสุราษฎร์ธานี และพรุฉวาง มีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรสูง แสดงว่าเป็นประชากรขนาดใหญ่ สภาพทั่วไป

ของพรุลาว และพรุฉวางค่อนข้างสมบูรณ์ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยเกื้อหนุนที่ทำให้ประชากรปลาดุกลำพันรักษาความหลากหลายไว้ได้ (Hedrick, 1985)

*ความหลากหลายระหว่างประชากร*: ปลาดุกลำพันแบ่งออกเป็นประชากรย่อยมีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรในระดับสูงมียีน 2 ตำแหน่ง คือ *ACP** และ *GPI-2** ซึ่งแสดงความแตกต่างระหว่างประชากรสูงสุด ประชากรจากฉวางมีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากประชากรอื่นๆ ในระดับชนิดย่อย ($D \geq 0.01$) (Nei, 1988) (ตารางที่ 9) และมียีนซึ่งฟิกซ์ที่อัลลิลต่างจากประชากรอื่นๆ ถึง 10% โดยทั่วไปนั้นประชากรที่มีถิ่นอาศัยต่างกัน (allopatry) หากเป็นปลาต่างชนิดมักจะฟิกซ์ที่ยีนไม่น้อยกว่า 20% (Richardson et al., 1986) จึงเป็นไปได้ที่ปลาจากพรุฉวางอาจเป็นปลาต่างชนิดหรือต่างชนิดย่อยจากประชากรอื่นๆ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมทางอนุกรมวิธาน ยีน *ME-2** แสดงความแตกต่างระหว่างประชากรในระดับสูงมาก โดยประชากรจากพรุฉวางมีอัลลิล *ME-2* 90* ในความถี่ที่สูงมาก และไม่พบอัลลิลนี้ในประชากรอื่นๆ นอกจากนั้นยังมียีนอีก 3 ตำแหน่งที่แสดงความแตกต่างระหว่างประชากร ได้แก่ *IDPH-1*, EST** และ *ADH**

***ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดของปลาสกุล Clarias ด้วยวิธีวิเคราะห์ไอโซไซม์***

จากเอนไซม์/โปรตีน ที่ศึกษารวม 10 ชนิด (ยีนที่ควบคุม 13 ตำแหน่ง) และเป็นยีนในสภาวะหลากรูปแบบ ($P_{95}$) 4 ตำแหน่ง และยีนที่อยู่ในสภาพโฮโมไซกัสที่อัลลิลต่างกัน 8 ตำแหน่ง (ตารางที่ 10)

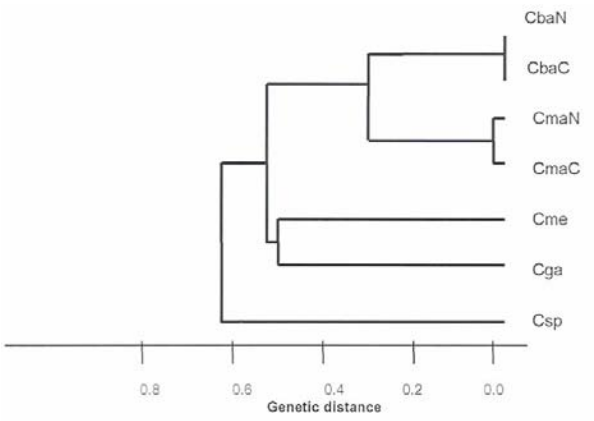
*ยีนที่แสดงความแตกต่างระหว่างชนิด* (*diagnostic loci*): ปลาดุกแต่ละชนิดมีความแตกต่างของลักษณะไอโซไซม์ชัดเจน (ตารางที่ 10) ระหว่างปลาดุกอุยและปลาดุกด้านมีไดแอกโนสติก โลไซ 3 ตำแหน่ง โดย *sMDH-2** ฟิกซ์ที่อัลลิลต่างกัน นอกจากนี้มียีนอีก 2 ตำแหน่ง คือ *GPD** และ *GPI-2** มีอัลลิลที่แตกต่างกันในปลา 2 ชนิดนี้ โดยแต่ละยีนอยู่ในสภาพหลากรูปแบบ สำหรับชนิดที่สนใจคือ ปลาดุกยักษ์และปลาดุกอุยนั้น มียีนที่ฟิกซ์ที่อัลลิลต่างกัน 4 ตำแหน่ง คือ *LDH-1*, sMDH-1*, PROT-1** และ *PROT-2** นอกจากนั้นยังมียีน 2 ตำแหน่ง ที่แสดงความแตกต่างระหว่างปลา 2 ชนิดนี้ แต่อยู่ในสภาพหลากรูปแบบ ได้แก่ *sMDH-2** และ *GPI** ปลาดุกไม่ทราบชื่อ และปลาดุกด้าน แตกต่างกันมากที่สุดโดยฟิกซ์ที่อัลลิลต่างกันในยีน 8 ตำแหน่ง นอกจากนั้นแล้วยีน *GPI-2** แสดงความแตกต่างระหว่างปลา 2 ชนิดนี้แต่อยู่ในสภาพหลากรูปแบบ จากค่า $F_{st}$ แสดงว่าปลาทุกชนิดที่ศึกษามีความแตกต่างของอัลลิลต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นยีน *IDHP** ค่า $F_{st}$ รวมมีค่า +0.948 และมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เด่นชัดระหว่างประชากร/ชนิดที่ศึกษา

*ความหลากหลายภายในประชากร*: จำนวนอัลลิลเฉลี่ยต่อโลกัสของทุกประชากรมีค่าระหว่าง 1.0-1.2 ซึ่งค่อนข้างต่ำ เปอร์เซ็นต์ยีนในสภาพหลากรูปแบบมีค่าต่ำสุดในประชากรปลาดุกด้านและปลาดุกอุยจากจังหวัดนราธิวาส เช่นเดียวกับปลาดุกไม่ทราบชนิด (ตารางที่ 11) เปอร์เซ็นต์ยีนในสภาพหลากรูปมีค่าสูงสุดในปลาดักและปลาดุกยักษ์ โดยมีค่าเท่ากัน คือ 15.4% รองลงมา คือ ปลาดุกด้านและปลาดุกอุยจากเชียงราย โดยมีค่าเท่ากันคือ 7.7% ส่วนปลาดุกด้านและปลาดุกอุยจากนราธิวาสมีค่าดังกล่าวเท่ากับ 0% เช่นเดียวกับปลาดุกไม่ทราบชนิด ค่า $H_o$ ของปลาดุกด้าน ปลาดุกอุยและปลาดุกไม่ทราบชนิด มีค่าต่ำ (0, .003-.018 และ .006 ตามลำดับ) ซึ่งอาจเกิดจากมีจำนวนประชากรในวัยเจริญพันธุ์น้อย หรืออาจผ่านสภาพคอขวด ซึ่งหมายถึงจำนวนประชากรลดน้อยลงมากในช่วงอายุใดอายุหนึ่งจนทำให้สูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมไป ปลาดัก (Cme) ซึ่งมีรายงานพบไม่บ่อยนัก มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ($H_o$=.060) ซึ่งแสดงว่ายังคงมีประชากรขนาดใหญ่ ส่วนปลาดุกยักษ์ (Cga) ซึ่งแม้จะเป็นประชากรจากโรงเพาะฟักก็พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับสูง ($H_o$=.055) น่าจะมีสาเหตุจากการผสมข้ามระหว่างปลาต่างประชากร (Teugels et al.,1992) ทั้งนี้ปลาดุกยักษ์ในประเทศไทยนั้น มีการนำเข้ามาหลายครั้ง นอกจากจะผ่านทางประเทศลาว (มาจากรัสเซียและเวียดนาม) แล้วยังมีการนำมาจากประเทศอื่นอีกด้วย ซึ่งปลาเหล่านี้อาจมาจากประชากรดั้งเดิมต่างกัน

*ความหลากหลายระหว่างประชากรและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม*: ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างปลาต่างชนิดมีค่าระหว่าง .346-1.181 (ตารางที่ 12) โดยปลาดุกอุยและปลาดุกด้านมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อยที่สุด

(D=.346-.364) ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมมีค่าสูงที่สุดระหว่างปลาดุกด้านและปลาดุกไม่ทราบชนิด (D=1.75-1.181)

ปลาทั้ง 5 ชนิด สามารถแยกออกเป็น 3 กลุ่ม (ภาพที่ 5) ได้แก่ กลุ่มปลาดุกอุยและปลาดุกด้าน ซึ่งมีความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการมากกว่าชนิดอื่นๆ ปลาดักจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับปลาดุกยักษ์ ส่วนปลาดุกซึ่งยังไม่ทราบชนิดถูกจัดแยกจากกลุ่มอื่นๆ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างปลาดุกอุย ปลาดุกด้าน และปลาดุกยักษ์สอดคล้องกับความสัมพันธ์ที่ศึกษาโดยลักษณะ meristic และ morphometrics ซึ่ง Garcia-Franco (1993) ได้รายงานไว้ การค้นพบปลาดุก (Csp) เป็นสิ่งที่น่าสนใจมาก แม้ในขณะนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็นปลาชนิดใหม่หรือไม่ นอกจากนั้นยังพบว่าเป็นชนิดเดียวที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับชนิดอื่นๆ อย่างชัดเจน จำเป็นต้องมีการอนุรักษ์ไว้ก่อนที่จะสูญพันธุ์ไป จึงควรนำมาศึกษาทางชีววิทยาและคุณลักษณะต่างๆ อย่างละเอียดต่อไป เพื่อประโยชน์ทั้งทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานและการเพาะเลี้ยง




ภาพที่ 5. A UPGMA dendrogram of Nei's unbiased genetic distance in 17 populations of *Clarias* fish in Thailand.

***ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดของปลาสกุล Clarias ด้วยวิธีวิเคราะห์ RAPD-PCR***

ไพรเมอร์ 5 จาก 40 แบบ (OPA-08, 17 และ OPB-05, 06, 10) (ตารางที่ 13) ทำให้เกิดแถบ DNA ที่ชัดเจน ทำซ้ำได้และอยู่ในสภาพหลากรูป โดยทำให้เกิดชิ้น DNA ขนาดตั้งแต่ 344 bp ถึง 2,588 bp รวม 67 แถบ คิดเป็น 13.4 แถบต่อไพรเมอร์

*ดัชนีความคล้ายคลึง (Similarity Index) ภายในชนิด*: ค่าดัชนีความคล้ายคลึง (เป็นค่าผกผันของความหลากหลายภายในชนิด) เฉลี่ยจากทุกไพรเมอร์ในปลาดุกอุย ปลาดุกด้าน ปลาดุกยักษ์ ปลาดุกลำพัน และปลาดัก มีค่า 0.754±0.064, 0.732±0.165, 0.758±0.153, 0.696±0.191 และ 0.710±0.183 ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

แม้จะมีคุณสมบัติแตกต่างจากไอโซไซม์ โดยที่ RAPD-PCR จะครอบคลุมส่วนของจีโนมทั้งที่เป็นรหัสพันธุกรรมและไม่เป็นรหัสพันธุกรรม และการแสดงออกมีลักษณะแบบข่มสมบูรณ์ (Lynch and Milligan, 1994) แต่พบว่าข้อมูลจาก RAPD ให้ผลการศึกษาสอดคล้องกับผลจากไอโซไซม์ในปลาหลายชนิด เช่น ปลา striped red mullet (*Mullus surmulatus*) (Mamuris et al., 1999) ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในชนิด จากการศึกษาครั้งนี้ค่อนข้างสอดคล้องกับผลการศึกษาโดยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ ความแตกต่างที่ค่อนข้างชัดเจนพบในปลาดุกอุย และปลาดุกด้าน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับปลาดุกยักษ์ ในการศึกษาไอโซไซม์พบว่าปลาทั้ง 2 ชนิดนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในชนิดต่ำกว่าปลาดุกยักษ์มาก สาเหตุของความแตกต่างนี้อาจมีผลมาจากการที่ลายพิมพ์ RAPD ไม่ได้รับอิทธิพลจากการคัดพันธุ์โดยธรรมชาติ ต่างกับไอโซไซม์ ซึ่งบางครั้งอาจพบว่าบางโลไซอาจได้รับอิทธิพลจากการคัดพันธุ์โดยธรรมชาติ ทำให้อัลลิลที่เกิดใหม่อาจสูญหายไปจากชนิด/ประชากร (Utter, 1991)

*ระยะห่างทางพันธุกรรม (Genetic distance) และค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Identity) ระหว่างชนิด*: ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (D) ระหว่างชนิด (Nei, 1978) มีค่าระหว่าง 0.1078 (ปลาดุกด้าน-ปลาดุกยักษ์) ถึง 0.2545 (ปลาดุกด้าน-ปลาดัก) และมีค่าเฉลี่ย 0.1688 ส่วนค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (I) มีค่าระหว่าง 0.7753 (ปลาดุกด้าน-ปลาดัก) ถึง 0.8194 (ปลาดุกยักษ์-ปลาดุกด้าน) (ตารางที่ 15)

แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม: ปลาทั้ง 5 ชนิดนี้มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมลดหลั่นกันตามลำดับ โดยไม่ได้แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยๆ ทั้งนี้ปลาดุกด้านมีพันธุกรรมคล้ายคลึงกับปลาดุกยักษ์มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ ปลาดุกลำพัน ปลาดุกอุย และปลาดัก

อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาในครั้งนี้ใช้ตัวอย่างจำนวนน้อย เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ศึกษาเก็บในเวลาต่าง ๆ กัน ทำให้คุณภาพ DNA ที่สกัดได้ไม่สม่ำเสมอจึงได้ตัดข้อมูลบางส่วนออกไป Mamuris et al. (1999) แนะนำว่าเนื่องจากลายพิมพ์ RAPD มีคุณสมบัติข่มสมบูรณ์ จึงควรใช้จำนวนตัวอย่างมากกว่าการศึกษาไอโซไซม์ 2-10 เท่า

**บทสรุป**

*ปลาดุกอุย*: จากผลการศึกษาพบว่า ประชากรปลาดุกอุยแบ่งออกเป็นประชากรย่อยมีพันธุกรรมแตกต่างกันชัดเจน โดยสามารถแบ่งความแตกต่างถึงระดับ local race ระหว่างปลาจากภาคใต้กับปลาจากลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยา (ภาคเหนือ-ภาคกลาง) และปลาจากลุ่มแม่น้ำโขง (ภาคอีสาน) ส่วนปลาจาก 2 กลุ่มหลัง มีพันธุกรรมแตกต่างกันเกือบถึงระดับ local race ดังนั้นจึงควรมีการจำกัดการขนย้ายประชากรปลาข้ามถิ่นซึ่งจะส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนทางพันธุกรรม และทำให้สูญเสียความหลากหลายระหว่างประชากร ควรวางแผนการอนุรักษ์ในพื้นที่ และดำเนินการพร้อม ๆ กันไปใน 3 local race ใหญ่ ๆ ควรงดการเพาะปลาปล่อยในเขตภาคเหนือตอนล่างและภาคกลางตอนบน เนื่องจากประชากรปลาดุกอุยในธรรมชาติยังมีมาก หากวางแผนไม่ถูกต้อง อาจมีผลให้สูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ แต่อาจมีการปล่อยในภาคอีสานและภาคใต้ ทั้งนี้โดยใช้พ่อแม่ปลาธรรมชาติจากท้องถิ่นนั้น ๆ และใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนมาก การพบยีนที่เป็นลักษณะเฉพาะของปลาดุกยักษ์ในปลาดุกอุยจำนวนหนึ่ง เป็นหลักฐานการปนเปื้อนทางพันธุกรรม จึงควรงดการเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย (ลูกผสมระหว่างปลาดุกอุยเพศเมียกับปลาดุกยักษ์เพศผู้) ในบริเวณที่ติดต่อกับแหล่งน้ำเปิด นอกจากนั้นควรหาทางผลิตลูกผสมที่เป็นหมัน และนำมาแทนที่การเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย

*ปลาดุกด้าน*: ประชากรปลาดุกด้านส่วนใหญ่อยู่ในสภาพที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ ซึ่งอาจนำไปสู่การสูญพันธุ์ในอนาคต อย่างไรก็ตาม ยังมีอีกหลายประชากรความหลากหลายในระดับพอใช้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีปริมาณของอัลลิลหายากในระดับสูง ซึ่งหากสามารถอนุรักษ์ไว้ได้จะเป็นหลักประกันอย่างดีว่าปลาชนิดนี้จะสามารถมีวิวัฒนาการต่อไปได้อย่างยั่งยืน ประชากร 18 ประชากรที่ศึกษาครั้งนี้ หากไม่สามารถอนุรักษ์ได้ทุกประชากรก็ควรเลือกประชากรที่เป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมไม่น้อยกว่า 0.01 ทั้งนี้เพื่อรักษาระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างประชากรไว้ จากผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจะพบว่ามีประชากร/กลุ่มประชากรที่แตกต่างกันในระดับประชากรถึง 8 กลุ่ม/ประชากร ได้แก่ นราธิวาส ตรัง สุราษฎร์ธานี เพชรบุรี สุรินทร์ ศรีสะเกษ อยุธยา/ห้วยคด และกลุ่มประชากรที่เหลือ 10 ประชากร ซึ่งในกลุ่มสุดท้ายนั้นควรเลือกประชากรที่เป็นตัวแทนของกลุ่มนี้ โดยพิจารณาจากความหลากหลายทางพันธุกรรม และการมีอัลลิลเฉพาะถิ่น และ/หรือ มีจำนวนอัลลิลเฉลี่ย/โลกัสสูง ซึ่งพบว่ามีอยู่ 3 ประชากร ได้แก่ ขอนแก่น พิษณุโลก สว่างดินแดน ในกลุ่มอยุธยา/ห้วยคดนั้น พบว่า ประชากรจากจังหวัดอยุธยามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าจึงควรอนุรักษ์ประชากรนี้ไว้

*ปลาดุกลำพัน*: ควรอนุรักษ์ประชากรครอบคลุมตัวแทนของกลุ่มประชากร 3 ประชากร คือ ประชากรจากพรุฉวาง ประชากรจากพรุลาว จังหวัดสุราษฎร์ธานี และประชากรจากพรุโต๊ะแดง และ/หรือ พรุบาเจาะ ใน 2 ประชากรแรกนั้นยังมีประชากรขนาดใหญ่ ควรดูแลไม่ให้มีการปล่อยปลาดุกลำพันลงในแหล่งน้ำเหล่านี้ นอกจากนั้นหากผู้ปฏิบัติขาดความรู้ความเข้าใจในการจัดการพ่อแม่พันธุ์สำหรับปล่อยในธรรมชาติ (Allendorf and Ryman, 1988) อาจทำให้โครงสร้างประชากรเปลี่ยนแปลงไปได้ ส่วนประชากรพรุโต๊ะแดง และพรุบาเจาะ ควรมีการสำรวจความชุกชุมประกอบการวางแผน หากชุกชุมน้อย สามารถฟื้นฟูได้โดยการปล่อยปลาดุกลำพันที่เพาะโดยใช้พ่อแม่พันธุ์ธรรมชาติที่ได้จากแหล่งน้ำเดิมจำนวนมาก ($Ne \geq 50$) (Kapuscinski and Jacobson, 1979)

*วิธีการอนุรักษ์*: อาจทำได้ 2 แบบ คือ การอนุรักษ์ในพื้นที่ (*in situ* conservation) และ การอนุรักษ์นอกพื้นที่ (*ex situ* conservation) การอนุรักษ์ในพื้นที่เป็นวิธีการที่จะให้ผลดีที่สุด (Bartley and Pullin,1999) เพราะสัตว์จะสามารถอาศัยอยู่ในระบบนิเวศดั้งเดิม มีวิวัฒนาการร่วมไปกับระบบนิเวศเช่นเดิม การอนุรักษ์ลักษณะนี้จะทำได้เฉพาะในแหล่งอาศัยที่เป็นพื้นที่อนุรักษ์อยู่แล้ว สำหรับพื้นที่อื่น ๆ ที่เป็นที่อยู่อาศัยของปลาดุกมักมีกิจกรรมทางการเกษตร ทำให้ไม่สามารถอนุรักษ์ระบบนิเวศนั้น ๆ ไว้ได้ อย่างไรก็ตาม การให้ความรู้เชิงอนุรักษ์แก่ประชาชน และกระตุ้นให้ประชาชนมีส่วนในการอนุรักษ์จะช่วยได้ไม่มากก็น้อย ส่วนการอนุรักษ์นอกพื้นที่ คือ การนำประชากรปลาไปเลี้ยงไว้ใน

ที่กักขัง วิธีการนี้สามารถทำได้ไม่ยากในปลาดุก เพราะเป็นปลาที่ทนต่อสภาพการเลี้ยงหนาแน่น และสามารถขยายพันธุ์ได้ในที่กักขัง สิ่งที่น่าเป็นห่วงคือ ความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่จะเกิดขึ้น หากจำนวนพ่อแม่พันธุ์มีน้อย จะทำให้สูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรมไป โดยเฉพาะอัลลิลหายากจะเป็นสิ่งแรกที่จะสูญเสียไป นอกจากนั้นวิธีปฏิบัติในโรงเพาะฟัก อาจทำให้พันธุกรรมของประชากรนั้นเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (Allendorf and Ryman, 1988) หลักการของธนาคารพันธุกรรมก็เป็นวิธีการอนุรักษ์นอกพื้นที่อีกวิธีหนึ่ง ซึ่งหมายถึง การเก็บรักษาสัตว์หรือพืชไว้ในรูปของไข่ น้ำเชื้อ หรือ DNA อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ยังอยู่ในระยะเริ่มต้น และมีข้อจำกัดทางเทคนิคมากมาย เช่น เทคนิคในการเก็บรักษาไข่

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุและวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 139030

## เอกสารอ้างอิง

กองปกครองท้องที่. 2535. สารบบแหล่งน้ำธรรมชาติภาคใต้ เล่ม 1. กองปกครองท้องที่, กรมการปกครอง, กรุงเทพ ฯ. หน้า. 332.

สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม. 2540. รายงานการประชุมเพื่อจัดสถานภาพทรัพยากร ชีวภาพของประเทศไทย. กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพ ฯ. หน้า. 52

Allendorf, F.W. and N. Ryman. 1988. Genetic management of hatchery stocks, pp. 141-159. *In* N. Ryman and F.Utter. (eds.), Population Genetics & Fishery Management. Washington Sea Grant Program, Seattle.

Avise, J. C. and C.F. Aquadro. 1982. A comparative summary of genetic distances in the vertebrate pattern and correlation. *Evol. Biol*. 15: 151-185.

Avise, J. C., P.C. Pierce, M.J. Van Den Avyle, M.H. Smith, W.S. Nelson and M.A. Asmussen. 1997. Cytonuclear introgressive swamping and species turnover of bass after an introduction. *J. of Heredity* 88: 14-20.

Bartley, D. and R.S.V. Pullin. 1999. Towards policies for aquatic genetic resources. *In* R.S.V. Pullin, D.M. Bartley and J. Kooiman (eds.), Towards Policies for Conservation and Sustainable Use of Aquatic Genetic Resources. ICLARM Conf. Proc. 59, pp. 1-16.

Daud, D.K., I. Patimah and A. Kijima. 1989. Genetic variability and relationships among four species of freshwater catfish. *Malaysian Applied Biology* 18: 23-31.

Fujio, Y. and Y. Kato. 1979. Genetic variation in fish populations. Bull. Japan. *Soc. Sci. Fish*. 45: 1169-1178.

Garcia-Franco, M. 1993. Intra- and Interspecific Relationships of the Clariid Catfish *Clarias batrachus*. Ph. D. Thesis. Tokyo University of Fisheries, Tokyo.

Hara, M. and U. Na-Nakorn. 1996. Study on the genetic character of aquatic animals in Thailand using isozyme analysis. pp. 1-60. *In* M. Hara and U. Na-Nakorn (eds.), Development of Sustainable Aquaculture Technology in Southeast Asia, JIRCAS and Faculty of Fisheries, Bangkok.

Hara, M., M. Sekino and U. Na-Nakorn. 1998. Genetic differentiation of natural populations of the snake-head fish, *Channa striatus* in Thailand. *Fisheries Science* 64(6): 882-885.

Hartl , D.L. and A.G. Clark. 1989. Principles of Population Genetics. 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland. pp. 22-42.

Hedrick, P.W. 1985. Genetics of Populations. Jones and Bartlett Publishers, Inc., Boston. pp. 4-10.

Kapuscinski, A.R. and L.D. Jacobson. 1979. Genetic guidelines for fisheries management. *cited after* FAO, 1988. Report of the EIFAC Technical Consultation on Genetic Broodstock Management and BreedingPractices of Finfish. EIFAC Occasional Paper No. 22. pp. 15.

Lawonyawut, L. 1995. Hybridization and Genetic Manipulation in *Clarias* catfish. Ph.D. Thesis. University of Stirling, Scotland.

Lynch, M. 1990. The similarity index and DNA fingerprinting. *Mol. Biol. Evol*. 7: 478-484.

Lynch, M. 1991. Analysis of population genetic structure by DNA fingerprinting. *In* Y.T. Burke, G. Dolf, A.J. Jeffreys and R. Wolf. (des.) DNA Fingerprinting Approaches and Application, pp. 113-126. Basel, Switzerland.

Lynch, M. and B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol*. 3: 91-99.

Mamuris, Z., C. Stamatix and C. Triantaphyllidis. 1999. Intraspecific genetic variation of striped red mullet (*Mullus surmuletus* L.) in the Mediterranean Sea assessed by allozyme and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Heredity* 83: 30-38.

Miller, M.P. 1997. TFPGA (Tools for Population Genetic Analyses) version 1.3 Distributed by the author. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, USA.

Morizot, D.C. and M.E. Schmidt. 1990. Starch gel electrophoresis and histochemica lvisualization of proteins. pp. 23-80. *In* D.H. Whitmore (ed.), Electrophoretic and Isoelectric Focusing Techniques in Fisheries Management. CRC Press, Boston.

Na-Nakorn, U., M. Hara, N. Taniguchi and S. Seki. 1998. Isozyme variation of *Clarias macrocephalus* from four locations in Thailand. Fisheried Science, 64: 526-530.

Na-Nakorn, U., N. Taniguchi, S. Seki, N. Estu and W. Kamonrat. 1999. Microsatellite loci from Thai walking catfish, *Clarias macrocephalus* and Their application to population genetics study. *Fisheries Science* 65(3): 520-526.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 23: 341-369.

Nei, M. 1988 . Genetic distance and molecular phylogeny. pp. 193-224. *In* Ryman, N. and F. Utter (eds.), Population Genetics & Fishery Management. Washington Sea Grant Program, Seattle.

Nevo, E. 1978. Genetic variation in natural populations: patterns and theory. *Theoret. Pop. Biol*. 13: 121-171.

Powell, J.R. 1975. Isozymes and non Darwinian evolution: a re-evolution, pp. 9-12, *In* Isozymes VI. Genetics and Evolution. Academic Press, New York.

Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (Ver.1.2): a population genetics software for exact test and ecumenicism. *J. Heredity* 86: 248-249.

Richardson, B.J., P.R. Baverstock and M. Adams.1986. Allozyme Electrophoresis. Academic Press, London. pp. 410.

Shaklee, J.B., F.W. Allendorf, D.C. Morizot and G.S. Whitt. 1990. Gene nomenclature for protein – coding loci in fish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 119: 2 -15.

Smith, H.M. 1945. The Fresh-water Fishes of Siam, or Thailand. United State Government Printing Office, Washington. pp. 622.

Sworfford, D.I. and R.B. Selander. 1989. BIOSYS-1: A Computer Program for the Analysis of Allelic Variation in Population Genetics and Biochemical Systematics. Release 1.7 Illinois Natural History Survey, Illinois. pp. 43.

Takata, L., M. Hoshino, W. Magtoon, N. Nadee and H. Uwa. 1993. Genetic differentiation *of Oryzias minutillus* in Thailand. Japan *J. Ichthyol*. 39: 319-328.

Teugels, G.G., R. Guyomard and M. Legendre. 1992. Enzymatic variation in African Clariid catfishes. *J. Fish. Biol*. 40: 87-96.

Utter, F.M. 1991. Biochemical genetics and fishery management: an historical perspective. *J. Fish Biol*. 39: (Suppl.A): 1-20.

Van de Bank, F.H., J.P. Grobler and H.H. Dupreez. 1992. A comparative biochemical genetic study of three populations of domesticated and wild African catfish (*Clarias gariepinus*) Comp. Biochem. Physiol. 101B: 387-390.

Van Treuren, R., R. Bijlsma, W. Van Delden and N.J. Ouborg. 1991. The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in *Salvia pratensis* and *Scabiosa columbaria* in relation to population size. *Heredity* 66: 181-189.

Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res*. 18: 6531-6535.

ตารางที่ 1. Allele frequencies of 8 polymorphic loci and 4 loci with variant alleles in 26 populations of *Clarias macrocephalus* in Thailand.

| loci | Population | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N1 | N2 | N3 | N4 | N5 | N6/1 | N6/2 | N7/1 | N7/2 | N7/3 | N8 | C1 | C2 | C3 | NE1 | NE2 | NE3 | E1 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | AQ |
| *SAAT** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| -100 | 1.000 | 1.000 | .980 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .985 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .987 | 1.000 | 938 | 1 000 | 1.000 | .986 | 1.000 | 1 000 | .981 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1 000 | 1.000 |
| - 80 | .000 | .000 | .020 | .000 | .000 | .000 | 000 | .000 | .015 | .000 | .000 | .000 | .013 | .000 | .063 | .000 | .000 | .014 | .000 | .000 | .019 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 |
| *ADH** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| -100 | 1.000 | 1.000 | .980 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .988 | .975 | 1.000 | .969 | 1.000 | .985 | .919 | 1.000 | .969 | 1 000 | 1.000 | 959 | 1.000 | .915 | .849 | 778 | .842 | .943 | 967 | 1.000 |
| - 15 | .000 | .000 | .020 | .000 | .000 | .000 | 013 | .025 | .000 | .031 | .000 | .015 | .081 | .000 | .031 | .000 | .000 | .041 | .000 | .085 | .151 | 222 | 158 | .057 | .033 | .000 |
| *GPD** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 100 | .700 | .682 | .837 | 933 | .839 | .881 | .962 | .675 | .735 | 673 | .571 | .950 | .908 | .671 | .906 | .950 | .980 | 1 000 | .990 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | .950 |
| 40 | .300 | .318 | 162 | .067 | .161 | .119 | .038 | .325 | .265 | .327 | .429 | .050 | .092 | .329 | .094 | .050 | .020 | .000 | .010 | .000 | .000 | .000 | 000 | 000 | .000 | .050 |
| *GPI-1** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 140 | .000 | .000 | 000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .015 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 000 | .000 | .000 | 000 | .012 |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .988 | .985 | 1.000 | 1.000 | .970 | .895 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .973 | 1.000 | .976 | 1.000 | 1.000 | 1 000 | 1 000 | 1 000 | .841 |
| 60 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .015 | .000 | .000 | .008 | .026 | .000 | .000 | 000 | .000 | 027 | .000 | .000 | .000 | .000 | 000 | .000 | .000 | .012 |
| - 27 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .013 | .000 | .000 | .000 | .007 | .079 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .024 | 000 | .000 | 000 | .000 | .000 | .135 |
| *GPI-2** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 115 | .000 | .000 | .000 | .000 | .016 | .000 | .025 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 000 | .000 | .000 | .049 |
| 100 | 1.000 | 1.000 | .980 | 1.000 | .984 | 1.000 | .975 | .988 | .985 | 1.000 | .986 | .969 | .987 | .950 | 1.000 | .988 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 991 | 984 | 1.000 | .927 |
| 85 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .031 | .000 | .012 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 000 | .000 | .000 | .000 | .016 | 000 | .012 |
| 60 | .000 | .000 | .020 | .000 | .000 | .000 | .000 | .013 | .015 | .000 | .014 | .000 | .013 | .038 | .000 | .012 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 000 | .009 | .000 | .000 | .012 |
| *LDH-1** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .967 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .986 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | 988 |
| 30 | .000 | .000 | .000 | .033 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .014 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 000 | .000 | 000 | .012 |
| *MEP** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 110 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .225 | .015 | .000 | .000 | .000 | .000 | .158 | .000 | .000 | .000 | 000 | .027 | .000 | .012 | .000 | .000 | 000 | .025 | .000 | .000 |
| 100 | .988 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .982 | 1.000 | .712 | .924 | .985 | 1.000 | 1.000 | .982 | .763 | 1.000 | .719 | 1.000 | 1.000 | .973 | 1.000 | .988 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .975 | 1.000 | 1.000 |
| 80 | .012 | .000 | .000 | .000 | .018 | .000 | .063 | .061 | .015 | .000 | .000 | .018 | .079 | .000 | .281 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 |
| *SMDH-1** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 100 | .809 | .500 | .360 | .867 | .453 | .413 | .412 | .463 | .426 | .265 | .529 | .591 | .671 | .363 | .813 | .475 | 429 | .878 | .559 | .768 | .943 | 944 | .982 | .877 | 1.000 | 720 |
| 50 | .191 | .500 | .640 | .133 | .547 | .587 | .588 | .538 | .574 | .735 | .471 | .409 | .329 | .637 | .188 | .525 | .571 | .122 | .441 | .232 | 057 | .056 | .018 | .123 | .000 | .280 |
| *SMDH-2** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .957 | 1.000 | .988 | 1.000 | 1.000 | 1.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| 130 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .043 | .000 | .012 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 |
| *MPI** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 130 | .000 | .000 | .020 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .021 | .027 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 |
| 110 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .015 | 000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .297 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .025 | .000 | .000 |

ตารางที่ 1. (ต่อ)

| Loci | population | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N1 | N2 | N3 | N4 | N5 | N6/1 | N6/2 | N7/1 | N7/2 | N7/3 | N8 | C1 | C2 | C3 | NE1 | NE2 | NE3 | E1 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | AQ |
| *MPI** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 130 | .000 | .000 | .020 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .021 | .027 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 |
| 110 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .015 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .297 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .025 | .000 | 000 |
| 100 | .982 | 1.000 | .980 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .988 | 1.000 | .985 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .979 | .676 | 1.000 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | .975 | 1 000 | 1.000 |
| 88 | .018 | .000 | .000 | .000 | 000 | .000 | 013 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 000 | 000 | .000 | 000 | .000 | 000 | .000 | .000 | 000 | .000 | .000 | 000 |
| *PGDH** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 110 | .000 | .000 | 000 | .083 | .000 | .000 | .017 | .360 | .050 | .000 | .132 | .000 | .000 | .065 | .000 | .115 | .000 | .000 | 000 | .000 | 000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 |
| 100 | 1.000 | .955 | 989 | .917 | 875 | 1.000 | .983 | .600 | .900 | 1 000 | .868 | 1.000 | 1 000 | .887 | 1.000 | .885 | .959 | 1.000 | .941 | 854 | .937 | 1.000 | .965 | .941 | .966 | 944 |
| 88 | .000 | .045 | .011 | 000 | .125 | .000 | .000 | .040 | .050 | .000 | .000 | .000 | .000 | .048 | .000 | .000 | 041 | .000 | .059 | .146 | .063 | .000 | .035 | .059 | .034 | .056 |
| *PGM** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 100 | 1.000 | .909 | 860 | .367 | .875 | .652 | .763 | .850 | .853 | 782 | .829 | .955 | .895 | .950 | 1.000 | .975 | 1.000 | .986 | 1.000 | 890 | 1.000 | .889 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | .951 |
| 70 | .000 | .091 | .000 | .000 | 000 | .000 | 000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 000 | .000 | .000 | .000 | .037 | 000 | .111 | .000 | .000 | .000 | 000 |
| 50 | .000 | .000 | .140 | .633 | .125 | .348 | .237 | .150 | .147 | .218 | .171 | .045 | .105 | 050 | .000 | .025 | .000 | .014 | .000 | .073 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .049 |

Note: N1=Chiangrai; N2=Phayao; N3=Chiangmai; N4=Prae; N5=Utharadit; N6/1=Sukhothai; N6/2=Sukhothai (Kirimas); N7/1=Pisanulok (Prompiram); N7/2= Pisanulok (Bangrakam); N7/3= Pisanulok (Watboad); N8=Kampangpet; C1=Nakornsawan; C2=Uthaithani; C3=Nakornnayok; NE1= Nakompanom; NE2= Sakolnakorn; NE3=Srisaket; E1=Chantaburi; S1=Choomporn; S2=Suratthani; S3=Nakornsrithammarat; S4=Trang; S5=Pattalung; S6=Satoon; S7=Narathiwas; AQ=Department of Aquaculture

ตารางที่ 2. Measures of genetic variability (no. allele per locus, percentage of polymorphic loci, mean heterozygosity (observed and expected), fixation index ($F_{is}$), Hardy-Weinberg exact test P value* and mean sample size per locus (S.E. in parentheses) at 18 loci in 25 populations of *Clarias macrocephalus* in Thailand.

| Population | Mean sample size/locus | Mean no. allele per locus | Percentage of polymorphic loci | Mean heterozygosity | | $F_{is}$ | P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Observed | Expected | | |
| 1. Chiangrai (N1) | 54.2(.8) | 1.2(.1) | 11.1 | .036(.024) | .044(.028) | .182 | .001 |
| 2. Phayao (N2) | 11.0( .0) | 1.2(.1) | 16.7 | .056(.030) | .069(.038) | .188 | .003 |
| 3. Chiangmai (N3) | 49.1( .6) | 1.4(.1) | 16.7 | .050(.028) | .065(.030) | .230 | .000 |
| 4. Prae (N4) | 14.6( .2) | 1.3(.1) | 22.2 | .030(.026) | .060(.030) | .500 | .000 |
| 5. Utharadit (N5) | 29.7(1.1) | 1.3(.1) | 22.2 | .051(.027) | .072(.033) | .292 | .001 |
| 6. Sukhothai (N6/1) | 21.2( .9) | 1.2(.1) | 16.7 | .063(.035) | .070(.037) | .100 | .048 |
| 7. Sukothai-Kirimas (N6/2) | 39.3( .6) | 1.6(.1) | 16.7 | .061(.032) | .085(.038) | .282 | .000 |
| 8. Pisanulok-Prompiram (N7/1) | 38.8( .9) | 1.6(.2) | 27.8 | .075(.028) | .111(.044) | .324 | .000 |
| 9. Pisanulok-Bangrakam (N7/2) | 31.9(1.1) | 1.6(.1) | 22.2 | .072(.035) | .082(.035) | .122 | .004 |
| 10. Pisanulok-Watboad (N7/3) | 48.4( .6) | 1.2(.1) | 16.7 | .060(.032) | .069(.036) | .130 | .000 |
| 11. Khampangpet (N8) | 32.3(1.2) | 1.3(.1) | 22.2 | .068(.037) | .088(.041) | .227 | .018 |
| 12. Nakornsawan (C1) | 38.3( .8) | 1.4(.2) | 27.8 | .053(.030) | .073(.035) | .274 | .000 |
| 13. Uthaithani (C2) | 37.8( .1) | 1.6(.2) | 33.3 | .047(.021) | .089(.033) | .472 | .000 |
| 14. Nakoinnayok (C3) | 64.1( .9) | 1.6(.2) | 11.1 | .041(.025) | .048(.027) | .145 | .000 |
| 15. Nakornphanom (NE1) | 16.0( .0) | 1.3(.1) | 22.2 | .045(.023) | .061(.029) | .262 | .112 |
| 16. Sakolnakorn (NE2) | 39.1( .8) | 1.3(.1) | 16.7 | .029(.025) | .049(.030) | .408 | .000 |
| 17. Srisaket (NE3) | 48.9( .1) | 1.2(.1) | 5.6 | .025(.020) | .036(.027) | .305 | .000 |
| 18. Chantaburi (E1) | 36.4( .5) | 1.4(.1) | 11.1 | .018(.011) | .051(.027) | .647 | .000 |
| 19. Choomporn (S1) | 51.0( .0) | 1.2(.1) | 11.1 | .035(.029) | .035(.028) | .000 | .100 |
| 20. Suratthani (S2) | 41.0( .0) | 1.4(.1) | 22.2 | .035(.015) | .058(.026) | .396 | .002 |
| 21. Nakornsrithammarat (S3) | 51.4( .8) | 1.2(.1) | 16.7 | .030(.017) | .029(.016) | .034 | .510 |
| 22. Trang (S4) | 9.0( .0) | 1.2(.1) | 16.7 | .043(.027) | .038(.023) | .131 | 1 |
| 23. Pattalung (S5) | 54.4(1.1) | 1.2(.1) | 5.6 | .022(.016) | .022(.015) | .000 | .800 |
| 24. Satoon (S6) | 60.2( .6) | 1.3(.1) | 16.7 | .030(.016) | .032(.014) | .062 | .001 |
| 25. Narathiwas (S7) | 59.2(1.0) | 1.1(.1) | 0.0 | .006(.004) | .007(.005) | .143 | .047 |
| 26. Dept. of Aquaculture (AQ) | 37.2(1.7) | 1.7(.2) | 27.8 | .060(.026) | .065(.027) | .077 | .020 |
| | Average** | 1.288 | 17.120 | .046 | .0577 | .233 | |

หมายเหตุ: *Markov chain method (dememorization = 100, batches=26, iterations per batch=1000) **population 26 is not included.

ตารางที่ 3. Matrix of genetic distance coefficients (Nei, 1978) of 22 populations of *Clarias macrocephalus* in Thailand.

| Population | N1 | N3 | C3 | N7/1 | E1 | NE3 | S1 | S2 | S3 | S5 | S6 | S7 | N5 | N7/2 | N7/3 | N8 | NE1 | N6/1 | N6/2 | C2 | NE2 | AQ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chiangrai N1 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Chiangmai N3 | .012 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Nakornnayok C3 | .002 | .004 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pisanulok-Prompiram N7/1 | .018 | .002 | .009 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Chantaburi E1 | .004 | .017 | .006 | .029 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Srisaket NE3 | .010 | .003 | .003 | .010 | .011 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Choompom S1 | .007 | .004 | .002 | .012 | .007 | .002 | **** | | | | | | | | | | | | | | | |
| Surattani S2 | .006 | .008 | .003 | .017 | .003 | .005 | .002 | **** | | | | | | | | | | | | | | |
| Nakornsrithammarat S3 | .005 | .012 | .005 | .024 | .002 | .008 | .004 | .001 | **** | | | | | | | | | | | | | |
| Pattalung S5 | .009 | .026 | .012 | .039 | .003 | .018 | .011 | .007 | .003 | **** | | | | | | | | | | | | |
| Satoon S6 | .005 | .016 | .006 | .028 | .001 | .011 | .006 | .002 | .001 | .002 | **** | | | | | | | | | | | |
| Narathiwas S7 | .006 | .022 | .009 | .035 | .000 | .015 | 010 | .005 | .003 | .003 | .001 | **** | | | | | | | | | | |
| Utharadit N5 | .006 | .000 | .001 | .002 | .013 | .003 | .003 | .006 | .010 | .021 | .013 | .018 | **** | | | | | | | | | |
| Pisanulok-Bangrakam N7/2 | .010 | .001 | .004 | .001 | .019 | .007 | .006 | .010 | .014 | .026 | .017 | .024 | .001 | **** | | | | | | | | |
| Pisanulok-Watboad N7/3 | .031 | .014 | .022 | .014 | .036 | .026 | .022 | .022 | .028 | .043 | .029 | .040 | .017 | .012 | **** | | | | | | | |
| Kampangpet N8 | .006 | .004 | .003 | .004 | .017 | .010 | .008 | .010 | .014 | .023 | .016 | .020 | .001 | .001 | .016 | **** | | | | | | |
| Nakompanom NE1 | .016 | .002 | .008 | .004 | .023 | .008 | .007 | .012 | .017 | .030 | .019 | .028 | .004 | .002 | .008 | .005 | **** | | | | | |
| Sukothai N6/1 | .018 | .003 | .009 | .005 | .021 | .009 | .007 | .011 | .016 | .027 | .018 | .026 | .005 | .003 | .015 | .008 | .006 | **** | | | | |
| Sukothai-Kirimas N6/2 | .022 | .004 | .012 | .006 | .024 | .012 | .011 | .012 | .019 | .032 | .021 | .029 | .007 | .005 | .007 | .010 | .005 | .001 | **** | | | |
| Uthaithani C2 | .009 | .009 | .006 | .015 | .009 | .011 | .006 | .005 | .008 | .014 | .007 | .011 | .008 | .008 | .014 | .008 | .008 | .010 | .008 | **** | | |
| Sakolnakom NE2 | .010 | .001 | .003 | .007 | .013 | .003 | .001 | .005 | .008 | .018 | .010 | .016 | .002 | .003 | .012 | .006 | .001 | .005 | .006 | .005 | **** | |
| Dept. of Aquaculture AQ | .004 | .009 | .002 | .018 | .002 | .004 | .002 | .001 | .002 | .006 | .003 | .004 | .006 | .011 | .030 | .010 | .014 | .012 | .016 | .006 | .006 | **** |

ตารางที่ 4. Allele frequencies of 22 polymorphic isozyme/protein loci in 18 populations of *Clarias batrachus*. Gene frequencies of the monomorphic loci; *ACP-2*, sAAT-1*, sMDH-1*, ME-2*, PROT-1*, 2** are not shown.

| loci | Populations | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N1 | N2 | N3 | NE1 | NE2 | NE3 | NE4 | NE5 | NE6 | NE7 | C1 | C2 | C3 | W1 | S1 | S2 | S3 | S4 |
| *ADH** | 49 | 49 | 48 | 13 | 49 | 38 | 20 | 51 | 48 | 39 | 20 | 45 | 38 | 20 | 16 | 49 | 26 | 50 |
| *- 60** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.013 | 0.000 | 0.010 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *- 90** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.013 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.011 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.019 | 0.000 |
| *-100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.974 | 1.000 | 0.990 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.989 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.981 | 1.000 |
| *SAAT-2** | 36 | 49 | 49 | 14 | 46 | 42 | 20 | 52 | 48 | 39 | 20 | 45 | 38 | 20 | 16 | 50 | 25 | 50 |
| *- 40** | 0.000 | 0.000 | 0.020 | 0.000 | 0.0430.0 | 0.060 | 0.025 | 0.000 | 0.063 | 0.026 | 0.100 | 0.000 | 0.026 | 0.050 | 0.000 | 0.050 | 0.000 | 0.000 |
| *- 80** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 00 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.220 | 0.050 |
| *-100** | 1.000 | 1.000 | 0.980 | 1.000 | 0.957 | 0.940 | 0.975 | 1.000 | 0.938 | 0.974 | 0.900 | 1.000 | 0.974 | 0.950 | 1.000 | 0.950 | 0.780 | 0.950 |
| *EST-1** | 49 | 49 | 39 | 14 | 50 | 42 | 20 | 31 | 48 | 29 | 20 | 34 | 36 | 19 | 16 | 50 | 28 | 50 |
| *115** | 0.000 | 0.204 | 0.333 | 0.000 | 0.170 | 0.048 | 0.050 | 0.226 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.114 | 0.211 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| *100** | 1.000 | 0.745 | 0.641 | 1.000 | 0.830 | 0.952 | 0.950 | 0.774 | 0.896 | 1.000 | 0.800 | 0.368 | 0.571 | 0.737 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *85** | 0.000 | 0.051 | 0.026 | 0.000 | 0.000 | .0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.104 | 0.000 | 0.200 | 0.632 | 0.314 | 0.053 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *EST-2** | 49 | 49 | 49 | 14 | 50 | 42 | 20 | 51 | 48 | 39 | 20 | 45 | 38 | 20 | 16 | 50 | 28 | 50 |
| *100** | 1.000 | 0.878 | 0.980 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.950 | 1.000 | 1.000 | 0.974 | 1.000 | 1.000 | 0.921 | 0.800 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *85** | 0.000 | 0.122 | 0.020 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.050 | 0.000 | 0.000 | 0.026 | 0.000 | 0.000 | 0.079 | 0.200 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| *G6PDH-1** | 49 | 46 | 43 | 14 | 48 | 20 | 20 | 10 | 18 | 35 | 20 | 20 | 34 | 20 | 10 | 44 | 22 | 49 |
| *110** | 0.061 | 0.043 | 0.047 | 0.000 | 0.010 | 0.125 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.044 | 0.150 | 0.000 | 0.057 | 0.000 | 0.061 |
| *100** | 0.939 | 0.946 | 0.953 | 0.929 | 0.990 | 0.875 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.986 | 1.000 | 1.000 | 0.956 | 0.850 | 1.000 | 0.943 | 1.000 | 0.939 |
| *90** | 0.000 | 0.011 | 0.000 | 0.071 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.014 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *GPD-1** | 49 | 39 | 38 | 14 | 50 | 42 | 9 | 52 | 48 | 30 | 10 | 45 | 38 | 20 | 16 | 40 | 28 | 50 |
| *200** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.056 | 0.010 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *150** | 0.000 | 0.090 | 0.118 | 0.000 | 0.000 | 0.012 | 0.056 | 0.000 | 0.021 | 0.000 | 0.000 | 0.044 | 0.026 | 0.025 | 0.375 | 0.000 | 0.232 | 0.000 |
| *100** | 1.000 | 0.910 | 0.882 | 1.000 | 0.990 | 0.988 | 0.889 | 0.990 | 0.979 | 1.000 | 1.000 | 0.956 | 0.974 | 0.975 | 0.625 | 1.000 | 0.768 | 1.000 |
| *70** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.010 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *IDHP-1** | 49 | 49 | 49 | 11 | 48 | 42 | 20 | 52 | 48 | 39 | 20 | 45 | 38 | 20 | 15 | 50 | 28 | 50 |
| *115** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.0001.0 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.030 | 0.000 | 0.000 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 00 | 1.000 | 0.976 | 0.950 | 0.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.970 | 1.000 | 1.000 |
| *80** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.024 | 0.050 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *IDHP-2** | 39 | 49 | 49 | 11 | 40 | 42 | 20 | 37 | 48 | 37 | 20 | 44 | 29 | 10 | 13 | 50 | 28 | 40 |
| *125** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.150 | 0.012 | 0.075 | 0.081 | 0.010 | 0.446 | 0.000 | 0.000 | 0.052 | 0.000 | 0.769 | 0.320 | 0.000 | 0.150 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.850 | 0.976 | 0.925 | 0.919 | 0.990 | 0.554 | 1.000 | 1.000 | 0.948 | 1.000 | 0.231 | 0.680 | 1.000 | 0.837 |
| *80** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.012 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.013 |

ตารางที่ 4. (ต่อ)

| loci | Populations | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N1 | N2 | N3 | NE1 | NE2 | NE3 | NE4 | NE5 | NE6 | NE7 | C1 | C2 | C3 | W1 | S1 | S2 | S3 | S4 |
| *SMDH-2** | 49 | 49 | 49 | 14 | 50 | 42 | 20 | 52 | 48 | 39 | 20 | 45 | 38 | 20 | 16 | 50 | 28 | 50 |
| *110** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.024 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.050 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 0.990 | 1.000 | 1 000 | 0.976 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | 0 950 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| *80** | 0.000 | 0.000 | 0.010 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *ME-1** | 49 | 40 | 48 | 14 | 48 | 14 | 20 | 28 | 48 | 39 | 20 | 35 | 29 | 10 | 15 | 50 | 28 | 50 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.964 | 1.000 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 0.897 | 1.000 | 0.000 | 0.000 | 0.179 | 0.000 |
| *80** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.036 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.103 | 0.000 | 1.000 | 1.000 | 0.821 | 1.000 |
| *MPI-1** | 38 | 46 | 49 | 12 | 40 | 39 | 20 | 19 | 47 | 31 | 20 | 45 | 34 | 20 | 16 | 50 | 28 | 50 |
| *120** | 0.039 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.013 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.132 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.130 |
| *100** | 0.961 | 1.000 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 0 923 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.868 | 1.000 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | 0.860 |
| *80** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0 064 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.010 |
| *MPI-2** | 48 | 49 | 49 | 12 | 49 | 41 | 20 | 42 | 47 | 39 | 20 | 45 | 37 | 20 | 16 | 50 | 28 | 50 |
| *135** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.012 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.014 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 0.990 | 0.958 | 1.000 | 0.988 | 0.975 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.989 | 0.973 | 1.000 | 1.000 | 0.990 | 1.000 | 1.000 |
| *90** | 0.000 | 0.000 | 0.010 | 0.042 | 0.000 | 0.000 | 0.025 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.011 | 0.014 | 0.000 | 0.000 | 0.010 | 0.000 | 0.000 |
| *PGM-1** | 49 | 49 | 49 | 14 | 49 | 40 | 20 | 52 | 47 | 20 | 20 | 45 | 38 | 20 | 14 | 40 | 27 | 40 |
| *110** | 0 000 | 0.082 | 0 000 | 0.000 | 0.000 | 0.025 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *100** | 1.000 | 0.918 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.975 | 1 000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.825 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.981 | 1.000 |
| *90** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.175 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.019 | 0 000 |
| *PGM-2** | 20 | 30 | 38 | 4 | 16 | 19 | 20 | 18 | 20 | 20 | 20 | 27 | 18 | 11 | 6 | 29 | 16 | 20 |
| *110** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.079 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.019 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.025 |
| *100** | 0.975 | 0.900 | 0.908 | 1.000 | 1.000 | 0.921 | 1 000 | 1.000 | 0.625 | 0.975 | 0.800 | 0.944 | 0.861 | 0.955 | 0.750 | 1.000 | 1.000 | 0.975 |
| *90** | 0.025 | 0.100 | 0.092 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.375 | 0.025 | 0.200 | 0.037 | 0.139 | 0.045 | 0.250 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *PGDH-1** | 49 | 28 | 35 | 14 | 50 | 39 | 20 | 42 | 48 | 39 | 20 | 45 | 36 | 17 | 16 | 40 | 28 | 49 |
| *110** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.086 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.054 | 0.000 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.974 | 1.000 | 0.964 | 0.906 | 1.000 | 1 000 | 0.989 | 0.914 | 1.000 | 1.000 | 0.950 | 0.946 | 0.969 |
| *75** | 0.000 | 0 000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.026 | 0.000 | 0.036 | 0.094 | 0.000 | 0.000 | 0.011 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.050 | 0.000 | 0.031 |
| *IDDH-1** | 49 | 49 | 46 | 14 | 48 | 38 | 20 | 42 | 48 | 25 | 20 | 45 | 24 | 10 | 16 | 50 | 26 | 49 |
| *-170** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.192 | 0.000 |
| *-125** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.245 |
| *-115** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.025 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.100 | 0.173 | 0.408 |
| *-100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.893 | 0.875 | 1.000 | 0.975 | 0.976 | 1.000 | 0.900 | 1.000 | 1.000 | 0.979 | 1 000 | 1.000 | 0.900 | 0.635 | 0.347 |
| *- 85** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.107 | 0.125 | 0.000 | 0.000 | 0.024 | 0.000 | 0.100 | 0.000 | 0.000 | 0.021 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

หมายเหตุ: N1=Chiangrai, N2=Phayao, N3=Pisanulok, NE1=Amnatcharoen, NE2=Mahasarakham, NE3=Sakolnakorn (Sawangdaendin), NE4=Sakolnakorn (Arkaat-amnuay), NE5=Surin, NE6=Khonkhaen, NE7=Srisaket, C1=Uthaithani (Amphur Muang), C2=Uthaithani(Amphur Huay Kod), C3=Ayuthaya, W1=Kamchanaburi, S1=Petchaburi, S2=Surat-thani, S3=Trang, S4=Narathiwas

ตารางที่ 5. Measures of genetic variability (no. allele per locus, percentage of loci polymorphic, mean heterozygosity-observed and expected), fixation index ($F_{is}$) and mean sample size per locus (S.E. in parentheses) at 22 loci in 18 populations of *Clarias batrachus* in Thailand.

| Populations | Mean sample size per locus | Mean no. allele/locus | Percentage of polymorphic loci* | Mean heterozygosity | | $F_{is}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Observed | Expected** | |
| 1. Chiangrai (N1) | 46.1(1.5) | 1.1(0.1) | 4.5 | .005(.003) | .011(.006) | 0.545 |
| 2. Phayao (N2) | 45.6(1.3) | 1.4(0.1) | 27.3 | .025(.011) | .056(.023) | 0.554 |
| 3. Pisanulok (N3) | 46.5(1.0) | 1.4(0.1) | 13.6 | .032(.015) | .049(.024) | 0.347 |
| 4. Amnartcharoen ( NE1) | 13.0(0.5) | 1.1(0.1) | 9.1 | .007(.005) | .019(.011) | 0.632 |
| 5. Mahasarakam (NE2) | 46.9(1.6) | 1.3(0.1) | 13.2 | .015(.009) | .040(.019) | 0.625 |
| 6. Sakolnakorn (NE3) | 36.7(2.0) | 1.7(0.1) | 18.2 | .030(.010) | .048(.013) | 0.375 |
| 7. Sakolnakorn (NE4) | 19.5(0.5) | 1.4(0.1) | 22.7 | .014(.006) | .036(.013) | 0.611 |
| 8. Surin (NE5) | 41.8(2.9) | 1.3(0.1) | 9.1 | .010(.006) | .033(.017) | 0.697 |
| 9. Khonkaen (NE6) | 45.2(1.8) | 1.3(0.1) | 18.2 | .033(.017) | .046(.024) | 0.283 |
| 10. Srisaket (NE7) | 35.1(1.4) | 1.3(.01) | 9.1 | .020(.010) | .039(.024) | 0.487 |
| 11. Uthaithani (C1) | 19.5(0.5) | 1.2(0.1) | 22.7 | .048(.021) | .056(.025) | 0.143 |
| 12. Uthaithani (C2) | 41.6(1.5) | 1.3(0.1) | 9.1 | .021(.011) | .033(.022) | 0.364 |
| 13. Ayudthaya (C3) | 34.5(1.2) | 1.6(0.1) | 31.8 | .030(.008) | .088(.029) | 0.659 |
| 14. Kamchanaburi (W) | 17.6(0.9) | 1.3(0.1) | 18.2 | .020(.011) | .057(.026) | 0.649 |
| 15. Petchaburi (S1) | 15.0(0.5) | 1.1(0.1) | 13.6 | .037(.024) | .057(.032) | 0.351 |
| 16. Suratthani (S2) | 47.4(1.2) | 1.3(0.1) | 22.7 | .023(.009) | .045(.022) | 0.489 |
| 17. Trang (S3) | 26.8(0.6) | 1.4(0.1) | 22.7 | .034(.017) | .079(.033) | 0.570 |
| 18. Narathiwas ( S4) | 47.6(1.5) | 1.5(0.2) | 22.7 | .038(.019) | .069(.033) | 0.449 |
| | $\bar{X}$** | 1.33 | 17.16 | 0.025 | 0.048 | 0.491 |

หมายเหตุ: * A locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed .95

** Unbiased estimate (see Nei, 1978)

ตารางที่ 6. Matrix of genetic distance (Nei, 1978) of 18 populations of *Clarias batrachus* in Thailand.

| | N1 | N2 | N3 | NE1 | NE2 | NE3 | NE4 | NE5 | NE6 | NE7 | C1 | C2 | C3 | W | S1 | S2 | S3 | S4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chiangrai (N1) | **** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Phayao (N2) | .004 | **** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pisanulok (N3) | .006 | .001 | **** | | | | | | | | | | | | | | | |
| Amnartcharoen (NE1) | .000 | .004 | .007 | **** | | | | | | | | | | | | | | |
| Mahasarakam (NE2) | .003 | .004 | .004 | .002 | **** | | | | | | | | | | | | | |
| Sakolnakorn (NE3) | .000 | .003 | .005 | .001 | .003 | **** | | | | | | | | | | | | |
| Sakolnakorn (NE4) | .001 | .002 | .004 | .001 | .001 | .001 | **** | | | | | | | | | | | |
| Surin (NE5) | .050 | .051 | .050 | .051 | .049 | .049 | .045 | **** | | | | | | | | | | |
| Khonkaen (NE6) | .006 | .006 | .009 | .008 | .009 | .006 | .007 | .057 | **** | | | | | | | | | |
| Srisaket (NE7) | .010 | .014 | .016 | .009 | .005 | .010 | .007 | .057 | .016 | **** | | | | | | | | |
| Uthaithani (C1) | .005 | .004 | .006 | .005 | .006 | .004 | .005 | .055 | .003 | .014 | **** | | | | | | | |
| Uthaithani (C2) | .019 | .013 | .013 | .019 | .017 | .019 | .018 | .064 | .018 | .029 | .011 | **** | | | | | | |
| Ayudthaya (C3) | .008 | .004 | .005 | .009 | .007 | .008 | .007 | .055 | .008 | .016 | .005 | .005 | **** | | | | | |
| Kamchanaburi (W) | .004 | .000 | .002 | .005 | .004 | .003 | .003 | .052 | .009 | .014 | .006 | .014 | .004 | **** | | | | |
| Petchaburi (S1) | .194 | .158 | .157 | .196 | .169 | .192 | .177 | .221 | .189 | .167 | .189 | .181 | .152 | .154 | **** | | | |
| Suratthani (S2) | .157 | .127 | .128 | .158 | .139 | .155 | .146 | .185 | .162 | .152 | .156 | .147 | .122 | .118 | .019 | **** | | |
| Trang (S3) | .146 | .114 | .113 | .145 | .130 | .145 | .135 | .178 | .151 | .155 | .143 | .134 | .113 | .107 | .040 | .013 | **** | |
| Narathiwas (S4) | .172 | .143 | .143 | .171 | 153 | .171 | .162 | .204 | .179 | .173 | .172 | .162 | .136 | .134 | .044 | .013 | .013 | **** |

| | |
|---|---|
| mean | = 0.066 |
| SD | = 0.071 |

ตารางที่ 7. Allele frequencies of 18 isozyme and 2 protein loci in 5 populations of *Prophagorus nieuhofii* In southern Thailand. Sample sizes are given in the first row of each locus. Frequencies of the monomorphic loci; *sAAT-2**, *sMDH-2**, *MPI**, *LDH**, *PGM-1**, *PROT-I** and 2* are not shown

| Loci | Populations | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | TD | BJ | KK | LO | CW |
| *sAAT-1** | 50 | 64 | 34 | 34 | 27 |
| *85** | 0.090 | 0.023 | 0.059 | 0.250 | 0.093 |
| *100** | 0.910 | 0.977 | 0.941 | 0.750 | 0.907 |
| *ACP** | 50 | 64 | 33 | 34 | 10 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 |
| *60** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 1.000 |
| *ADH** | 45 | 58 | 32 | 33 | 26 |
| *60** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.016 | 0.076 |
| *80** | 0.022 | 0.000 | 0.000 | 0.136 | 0.212 |
| *100** | 0.900 | 0.991 | 1.000 | 0.848 | 0.712 |
| *105** | 0.078 | 0.009 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *EST** | 50 | 64 | 34 | 33 | 27 |
| *120** | 0.110 | 0.141 | 0.088 | 0.258 | 0.556 |
| *100** | 0.890 | 0.859 | 0.912 | 0.742 | 0.444 |
| *sMDH-1** | 50 | 64 | 34 | 34 | 27 |
| *100** | 1.000 | 0.992 | 0.971 | 1.000 | 1.000 |
| *50** | 0.000 | 0.008 | 0.029 | 0.000 | 0.000 |
| *ME-1** | 35 | 41 | 24 | 23 | 20 |
| *125** | 0.058 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *100** | 0.871 | 1.000 | 0.833 | 0.978 | 0.900 |
| *85** | 0.071 | 0.000 | 0.167 | 0.022 | 0.100 |
| *ME-2** | 36 | 45 | 29 | 29 | 20 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.100 |
| *90** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.900 |
| *IDHP-1** | 43 | 47 | 25 | 30 | 18 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.617 | 0.472 |
| *95** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.350 | 0.000 |
| *80** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.033 | 0.528 |
| *IDHP-2** | 49 | 61 | 34 | 34 | 27 |
| *100** | 1.000 | 0.992 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| *65** | 0.000 | 0.008 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| *PGDH** | 50 | 60 | 33 | 34 | 26 |
| *130** | 0.040 | 0.025 | 0.076 | 0.000 | 0.000 |
| *100** | 0.960 | 0.975 | 0.924 | 1.000 | 1.000 |
| *PGM-2** | 35 | 37 | 27 | 29 | 16 |
| *100** | 1.000 | 0.946 | 1.000 | 0.948 | 1.000 |
| *95** | 0.000 | 0.054 | 0.000 | 0.052 | 0.000 |
| *GPI-1** | 42 | 57 | 24 | 24 | 12 |
| *100** | 0.976 | 1.000 | 1.000 | 0.854 | 1.000 |
| *45** | 0.024 | 0.000 | 0.000 | 0.146 | 0.000 |
| *GPI-2** | 35 | 46 | 19 | 19 | 27 |
| *100** | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 |
| *65** | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 1.000 |

ตารางที่ 8. Measures of genetic variability (no. allel per locus, percentage of loci polymorphic, mean heterozygosity-observed and expected), fixation index ($F_{is}$) and mean sample size per locus (S.E. in parentheses) at 20 loci in 5 populations of *Prophagorus nieuhofii* in southern Thailand.

| Population | Mean sample size / locus | Mean no. allele/ locus | Percentage of loci polymorphic* | Mean heterozygosity | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Observed | Expected** |
| 1. Pru Toh Daeng (TD) | 44.3(1.6) | 1.4(0.2) | 20.0 | .031(.015) | .045(.018) |
| 2. Pru Bajoh (BJ) | 55.5(2.1) | 1.4(0.1) | 10.0 | .022(.014) | .025(.013) |
| 3. Pru Khuan Kreng (KK) | 30.4(1.0) | 1.3(0.1) | 20.0 | .029(.015) | .038(.017) |
| 4. Pru Lao (Kaonoy) (LO) | 30.6(1.0) | 1.5(0.2) | 30.0 | .059(.024) | .097(.037) |
| 5. Unname wetland | 22.6(1.2) | 1.4(0.1) | 30.0 | .065(.033) | .100(.040) |
| X** | | 1.4±0.07 | 22.0±8.37 | .041±.019 | .061±.035 |

หมายเหตุ: * A locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed .95

** Unbiased estimate (see Nei, 1978)

*** Fisher's exact test

ตารางที่ 9. Matrix of genetic distance coefficient (Nei, 1978) among 5 populations of *Prophagorus nieuhofii* in southern Thailand.

| Population | TD | BJ | KK | LO | CW |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. Pru Toh Daeng (TD) | **** | | | | |
| 2. Pru Bajoh (BJ) | 0.001 | **** | | | |
| 3. Pru Khuan Kreng (KK) | 0.000 | 0.001 | ***** | | mean=.08±.10 |
| 4. Pru Lao (Kaonoy) (LO) | 0.010 | 0.011 | 0.013 | ***** | |
| 5. Unname wetland | 0.196 | 0.194 | 0.198 | 0.190 | **** |

ตารางที่ 10. Allele frequencies of polymorphic loci of 7 populations/species of *Clarias* catfish: Cba = *Clarias batrachus*, Cma = *C. macrocephalus*, Cga = *C. gariepinus*, Cme = *C. meladerma*, Csp = *Clarias* sp.

| Loci | Population/species | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Cba N | Cba C | CmaN | Cma C | Cme | Cga | Csp |
| *MPI** | | | | | | | |
| 115 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 |
| 110 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 | .000 | .000 |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .000 | 1.000 | .000 |
| *IDHP** | | | | | | | |
| 110 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .021 |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .979 |
| *LDH-1** | | | | | | | |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .000 | .000 |
| 80 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 |
| 30 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 | .000 |
| *LDH-2** | | | | | | | |
| 110 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .000 | 1.000 | .000 |
| 80 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 | .000 | .000 |
| *SMDH-1** | | | | | | | |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .000 | .000 | .000 |
| 12 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| *SMDH-2** | | | | | | | |
| 110 | 1.000 | 1.000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 |
| 100 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 | .881 | 1.000 |
| 86 | .000 | .000 | 1.000 | 1.000 | .000 | .000 | .000 |
| 75 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .119 | .000 |
| *PGM** | | | | | | | |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .607 | 1.000 | 1.000 |
| 35 | .000 | .000 | .000 | .000 | .393 | .000 | .000 |
| *ADH** | | | | | | | |
| -30 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 |
| -45 | 1.000 | 1.000 | .020 | .000 | .442 | .000 | .000 |
| -100 | .000 | .000 | .980 | 1.000 | .558 | 1.000 | .000 |
| *GPD** | | | | | | | |
| 166 | 1.000 | 1.000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 |
| 100 | .000 | .000 | 1.000 | .720 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| 93 | .000 | .000 | .000 | .280 | .000 | .000 | .000 |
| *GPI** | | | | | | | |
| 120 | .000 | .000 | 1.000 | 1.000 | .000 | .000 | .000 |
| 100 | 1.000 | .918 | .000 | .000 | 1.000 | .000 | .000 |
| 85 | .000 | .082 | .000 | .000 | .000 | .286 | .000 |
| 78 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 |
| 60 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .714 | .000 |
| *PROT-1** | | | | | | | |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .000 | .000 | 1.000 |
| 90 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 | .000 | .000 |
| 68 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 | .000 |
| *PROT-2** | | | | | | | |
| 100 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .000 | .000 |
| 60 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 | .000 |
| 50 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | .000 | 1.000 |

ตารางที่ 11. Genetic variability at 13 loci in 7 populations of 5 species of *Clarias* (standard errors in parentheses)

| Population | Mean sample size per locus | Mean no. of alleles per locus | Percentage of Polymorphic loci* | Mean heterozygosity | | $F_{is}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Observed | Expected** | |
| 1. CbaN | 50.0(.0) | 1.0(.1) | 0 | .000(.000) | .000(.000) | 0 |
| 2. CbaC | 49.0(.0) | 1.1(.1) | 7.7 | .000(.000) | .012(.012) | 1 |
| 3. CmaN | 49.9(.1) | 1.1(.1) | 0 | .003(.000) | .003(.003) | 1 |
| 4. CmaC | 49.9(.1) | 1.1(.1) | 7.7 | .018(.018) | .031(.031) | .42 |
| 5. Cme | 27.5(.3) | 1.2(.1) | 15.4 | .060(.041) | .076(.051) | .21 |
| 6. Cga | 20.5(.3) | 1.2(.1) | 15.4 | .055(.040) | .049(.035) | -.12 |
| 7. Csp | 24.0(.0) | 1.2(.1) | 0 | .006(.004) | .006(.004) | 0 |

หมายเหตุ: * A locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed .95

** Unbiased estimate (see Nei, 1978)

ตารางที่ 12. Matrix of genetic distance coefficients (Nei, 1978) of 7 populations/species of Clarias fish in Thailand.

| Population | CbaN | CbaC | CmaN | CmaC | Cme | Cga | Csp |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. CbaN | **** | | | | | | |
| 2. CbaC | .000 | **** | | | | | |
| 3. CmaN | .366 | .360 | **** | | | | |
| 4. CmaC | .352 | .346 | .006 | **** | | | |
| 5. Cme | .801 | .810 | .800 | .837 | **** | | |
| 6. Cga | .931 | .920 | .749 | .780 | .798 | **** | |
| 7. Csp | 1.181 | 1.175 | .955 | .998 | .802 | .769 | **** |

ตารางที่ 13. A list of random primers (Operon Technologies, U.S.A.) producing sharp, polymorphic and reproducible bands in polymerase chain reaction using DNA of five species of *Clarias* as templates.

| Primers | Nucleotide sequences ( 5′ to 3′) |
|---|---|
| OPA-08 | 5′ GTGACGTAGG 3′ |
| OPA-17 | 5′ GAGCCCGACT 3′ |
| OPB-05 | 5′ TGCGCCCTTC 3′ |
| OPB-06 | 5′ TGCTCTGCCC 3′ |
| OPB-10 | 5′ CTGCTGGGAC 3′ |

ตารางที่ 14. Similarity index within a species of five species of *Clarias* catfishes as revealed by RAPD-PCR

| Similarity index (within species) | Primer | | | | | Average | SD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | OPA-08 | OPA-17 | OPB-05 | OPB-06 | OPB-10 | | |
| *Clarias macrocephalus* | 0.690 | 0.695 | 0.752 | 0.838 | 0.794 | 0.754 | 0.064 |
| *C. batrachus* | 0.898 | 0.790 | 0.517 | 0.603 | 0.854 | 0.732 | 0.165 |
| *C. gariepinus* | 0.752 | 0.730 | 0.574 | 1.000 | 0.735 | 0.758 | 0.153 |
| *Prophagorus nieuhofii* | 0.561 | 0.657 | 0.519 | 1.000 | 0.741 | 0.696 | 0.191 |
| *C. meladerma* | 0.625 | 0.555 | 1.000 | 0.590 | 0.778 | 0.710 | 0.183 |

ตารางที่ 15. A matrix of genetic identity (lower) and genetic distance (upper) between five species of *Clarias* catfishes as revealed by RAPD-PCR.

| species | Cma | Cba | Cga | Pni | Cme |
|---|---|---|---|---|---|
| Cma | *** | .1759 | .1646 | .1597 | .1991 |
| Cba | .8387 | *** | .1078 | .1252 | .2545 |
| Cga | .8482 | .8978 | *** | .1442 | .1695 |
| *Pni* | .8524 | .8823 | .8658 | *** | .1872 |
| Cme | .8194 | .7753 | .8216 | .8293 | *** |

หมายเหตุ: Cma=*Clarias macrocephalus*, Cba=*C. batrachus*, Cga=*C. gariepinus*, Pni=*Prophagorus nieuhofii*, Cme=*C. meladerma*

# การศึกษาเซลล์พันธุ์ศาสตร์ของสัตว์บางชนิดในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน

**อำพา เหลืองภิรมย์[1], สุมนทิพย์ บุนนาค[1], อรอนงค์ กฤชเพชรรัตน์[2] และชวลิต กฤชเพชรรัตน์[3]**

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง ขอนแก่น 40002

[2]ภาควิชาจุลคลีนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง ขอนแก่น 40002

[3]ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง ขอนแก่น 40002

**Abstract: Cytogenetic Studies of Some Animals in Phu-Phan National Park**

Cytogenetic studies were conducted of some animals in Phu-Phan National Park from January 1997 to January 2000 by using bone marrow cells of amphibians and reptiles and hepatic caeca cells of insects. Diploid chromosome numbers of amphibians were determined for one species of family Bufonidae (2n=22), six species of family Microhylidae (2n=24-28), eight species of family Ranidae (2n=26) and one species of family Rhacophoridae (2n=26). Chromosome numbers of reptiles were determined in 14 species and consisted of four species of family Gekkonidae (2n=32-44), five species of family Agamidae (2n=34-36), three species of family Scincidae (2n=28-32) and two species of family Columbridae (2n=30-32). Karyotype of twenty-nine species of insects in the order Orthoptera were studied including twenty species of family Acrididae (2n=20-30), six species of family Tettigonidae (2n=22-36), one species each of the family Pyromorphidae (2n=22), Gryllidae (2n=12) and Gryllatalpidae (2n=16).

**Key words:** Chromosome numbers, Amphibians, Reptiles, Orthoptera.

## บทนำ

อุทยานแห่งชาติภูพานตั้งอยู่ในเทือกเขาภูพาน มีเนื้อที่ประมาณ 665 ตารางกิโลเมตร ครอบคลุมพื้นที่สองจังหวัด คือ สกลนคร และกาฬสินธุ์ ปัจจุบันมีการแบ่งเขตสำหรับทัศนศึกษาแยกจากเขตป่าธรรมชาติ ทำให้เขตป่ายังคงมีสภาพความหลากหลายทางชีวภาพอยู่มาก จากการศึกษาของกรมป่าไม้ในปี พ.ศ.2535 พบว่ามีสัตว์อาศัยอยู่ 162 ชนิด เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ร้อยละ 32.6 สัตว์ปีก ร้อยละ 26.4 สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ร้อยละ 10.5 สัตว์เลื้อยคลาน ร้อยละ 23 และปลาน้ำจืด ร้อยละ 7.5 ส่วนแมลงไม่มีพบในรายงาน (ข้อมูลพื้นฐานจากแผนแม่บทอุทยานแห่งชาติภูพาน กรมป่าไม้ 2535) นอกจากนี้ ได้ศึกษาความหลากหลายของสัตว์ในเขตอุทยานแห่งชาติภูพานระหว่างปี 2541-2543 โดยคณะผู้วิจัยจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ดังนั้น การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ครั้งนี้จึงเลือกศึกษาสัตว์บางชนิดในอุทยานแห่งชาติภูพาน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกชนิดของสัตว์ การศึกษาสายวิวัฒนาการของสัตว์ การพิจารณานำทรัพยากรมาใช้อย่างคุ้มค่า และการวางแผนอนุรักษ์หรือขยายพันธุ์ที่หายากหรือใกล้สูญพันธุ์ กลุ่มสัตว์ที่เลือก ได้แก่ สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก สัตว์เลื้อยคลาน และแมลงบางชนิด ซึ่งเป็นสัตว์ที่ประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือนิยมรับประทานเป็นอาหาร ดังนั้นโอกาสสูญพันธุ์ของสัตว์เหล่านี้จึงสูง

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก สามารถจำแนกได้ 3 อันดับ ได้แก่ Caelilians เช่น งูดิน, Salamanders เช่น ซาลามานเดอร์ และ Anurans เช่น กบ คางคก เขียด ปาด อึ่ง และงูปลา (Dullman and Trueb, 1990) สัตว์เลื้อยคลานจำแนกได้ 4 อันดับ ได้แก่ Testidines เช่น เต่า, Crocodylia เช่น จระเข้, Sphendotidae เช่น ตัว tuataria ซึ่งไม่มีรายงานว่าพบในประเทศไทย และ Squamata เช่น ตุ๊กแก กิ้งก่า จิ้งเหลน และงู (Zug, 1993) สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและสัตว์เลื้อยคลานเป็นสัตว์ที่มีประโยชน์ต่อระบบนิเวศ ช่วยกำจัดแมลงแบบธรรมชาติ สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่นิยมนำมาเป็นอาหาร ได้แก่ กบ เขียด อึ่ง และงูน้ำ ส่วนสัตว์เลื้อยคลานที่นำมาเป็นอาหาร ได้แก่ กิ้งก่า งู จระเข้ และเต่า ซึ่งการนำมาเป็นอาหารอาจทำให้สัตว์เหล่านี้สูญพันธุ์ และทำให้ระบบนิเวศเสียสมดุล แมลงเป็นสัตว์ที่มีจำนวนมากถึงร้อยละ 50.8 ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด คนทั่วไปเข้าใจว่าแมลงส่วนใหญ่เป็นศัตรูของพืชและสัตว์ แต่พบว่าแมลงเป็นสัตว์ที่มีประโยชน์ทั้งด้านเกษตรกรรม การแพทย์และเป็นอาหาร แมลงถูกจำแนกเป็น 27 อันดับ มีการปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้เป็นอย่างดี ทำให้สามารถดำรงชีวิต ได้ ขณะที่สัตว์อื่นหลายชนิดต้องสูญพันธุ์ไปเรื่อยๆ แมลงมีลักษณะพิเศษหลาย

อย่างที่เหมาะสม เช่น ขนาดเล็ก และบินได้ไกล ทำให้หาอาหารได้มากโดยไม่ต้องแก่งแย่ง และหลบหนีภัยได้ง่าย แต่พบว่ามีความแปรผันทางพันธุกรรมสูง และการศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์ในประเทศไทยยังมีน้อยมาก

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในอันดับ Anurans มีผู้ศึกษาไว้ดังนี้คือ Matsui et al. (1985) ศึกษาวงศ์ Bufonidae (พวกคางคก) พบว่ามี *Bufo bufo* complex 6 ชนิด ได้แก่ *Bufo japonicus japonicus, Bufo japonicus formoris, Bufo terrenticola* และ *Bufo gargarizans* จากประเทศญี่ปุ่น *Bufo bufo* และ *Bufo bufo verrucosissimus* จากประเทศรัสเซีย มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n=22 แต่มีความแตกต่างกันที่ C-banding pattern บนแขนโครโมโซม Parida et al. (1988) รายงานว่า *Bufo stomaticus* จากประเทศอินเดีย มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 เช่นกัน นอกจากนี้ Kuramoto (1990) พบว่าสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกวงศ์ Bufonidae มีจำนวนโครโมโซม 2n=20-22 Parida and Mohanty-Hejmadi (1988) ศึกษาวงศ์ Microhylidae (พวกอึ่ง) พบว่า *Microhyla ornata* จากประเทศอินเดีย มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 ซึ่ง Kuramoto (1990) สรุปไว้ว่าสัตว์ในวงศ์ Microhylidae มีจำนวนโครโมโซม 2n=24-28 Kuramoto (1989) ศึกษาวงศ์ Ranidae (พวกกบ-เขียด) พบว่า *Rana temporaria* และ *R. everetti* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 แต่มีแตกต่างกันที่จำนวน supernumerary chromosome ซึ่งมีจำนวน 4 และ 1 ตามลำดับ Matsui et al. (1995) ได้ศึกษา *R. exilispinosa* และ *R. livada* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=26 ส่วนในสกุลอื่นๆ เช่น สกุล *Amolops* ได้แก่ *A. hongkongenesis* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 (Matsui et al., 1995) สกุล *Staurois* ได้แก่*S. latopalmatus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 เช่นกัน (Matsui and Seto, 1985)

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์เลื้อยคลานในอันดับ Squamata มีรายงานไว้ดังนี้คือ Wu and Zhao (1984) ศึกษาวงศ์ Gekkonidae พบว่า *Gekko gecko* จากประเทศจีน มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 Ota (1989) ศึกษาสกุล *Gekko* 5 ชนิด ได้แก่ *G. tawanenesis, G. yaknesis* จากประเทศไต้หวัน *G. pelricalus* และ *G. smithii* จากประเทศไทย พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=38 และ 42 ตามลำดับ และ *G. kikuchi* จากประเทศญี่ปุ่น พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=44 นอกจากนี้ การศึกษาในสกุล *Cyrtadactylus* ได้แก่ *C. conoobrinus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=48 และ *C. pulisulcus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=42 (Ota et al., 1992) ในสกุล *Hemidactylus* ได้แก่ *H. garnotti vietnamensis* complex มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 (Ota et al., 1996) Dey et al. (1988) ศึกษาวงศ์ Agamidae (พวกกิ้งก่า) พบว่าสัตว์เลื้อยคลานในสกุล *Japalura* ได้แก่ *J. variegata* จากประเทศอินเดีย มีจำนวนโครโมโซม 2n=34 ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ (macrochromosomes) 6 คู่ และขนาดเล็ก (microchromosomes) 11 คู่ Ota et al. (1992) ศึกษาสกุล *Genocephalus* 2 ชนิด ได้แก่ *G. grandis* และ *G. miotympanum* จากประเทศบอร์เนียว และออสเตรเลีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=42 ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ 11 คู่ และขนาดเล็ก 10 คู่ Makino and Asona (1950) ศึกษาวงศ์ Scincidae (พวกจิ้งเหลน) พบว่าในสกุล *Mabuya* ได้แก่ *M. multifasciata, M. rugifera* และ *M. macularia* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32 King (1973) พบว่า *M. macularia guadifasciata* มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 และ *M. longicaudata* มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 Ota et al. (1996) รายงานว่า *M. rugifera* และ *M. rudis* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32 ส่วน *M. longicaudata* มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 ทั้ง 3 ชนิด มีโครโมโซมขนาดใหญ่ 11 คู่ ที่เหลือเป็นขนาดเล็ก นอกจากนี้ Ota et al. (1991) ศึกษาในสกุล *Tropidophorus* ได้แก่ *T. brookei* และ *T. beccarii* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=30 Ota and Lue (1994) รายงานว่าสกุล *Sphenomorphus* ได้แก่ *S. indieus* และ *S. bonlengeri* จากประเทศไต้หวัน มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 Ota et al. (1996) ศึกษาสกุล *Ateuchosaurus* เช่น *A. chinensis* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=26

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ในแมลงอันดับ Orthoptera มีรายงานไว้ดังนี้คือ Kayano (1971) ศึกษาวงศ์ Acrididae (พวกตั๊กแตนหนวดสั้น) พบว่า *Locusta migratoria* ซึ่งเป็นตั๊กแตนที่ระบาดทุกปีในประเทศไทย สร้างความเสียหายแก่เกษตรกรรม เช่น ข้าวโพด มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 Al-Saleh et al. (1985) ศึกษาใน *Poekilocerus bufonius* จากประเทศซาอุดิอาระเบีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=20 López-León (1992) ศึกษาใน *Clorthippus jacobsi* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=18 และมีโครโมโซมเพศเป็น XO Beaudry (1973) ศึกษาวงศ์ Tettigonidae (พวกตั๊กแตนหนวดยาว) พบว่า *Amblycorpha oblongifolia* และ *Scudderia curricuada* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32

Lim et al. (1969) ศึกษาวงศ์ Gryllidae (พวกจิ้งหรีด) พบว่า *Tartarogryllus burdigalesis* มีจำนวนโครโมโซม 2n=20, *Gryllus sigillatus, Scapsipedus margintus, Mellanogryflus desertus* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22, *Gryllus pennsylvanicus*, *G. assimillis, G. bimaculatus, G. bermudensis, G. rubens* และ *G. campestris* มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 และ *G. veletis* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32 Handa et al. (1985) พบว่า จำนวนโครโมโซมของแมลงในอันดับ Orthoptera วงศ์ Gryllidae จากประเทศอินเดียมีความหลากหลายมาก เช่น *Loxoblemmus deteerns* มีจำนวนโครโมโซม 2n=12 *Gryllus confirmatus* และ *Turanogryllus jammnensis* มีจำนวนโครโมโซม 2n=20 *Gryllus melanocephalus, Grylodes sigillatus* และ *Stephoblemmus humbertiellus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และ *Gryllus bimaculatus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 ภัทรกร (2544) ได้ศึกษาใน *Gryllus bimaculatus, Modicogryllus confirmata* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=30, *Teleogryllus testaceus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=28 และพบว่าลูกที่เกิดจากการผสมพันธุ์ของ *G. bimaculatus* และ *T. testaceus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=28

สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจชนิดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก สัตว์เลื้อยคลาน และแมลงในอันดับออร์ธอปเธอรา และศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์โดยจำแนก นับจำนวน และวัดขนาดโครโมโซม จัดทำคาริโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก สัตว์เลื้อยคลาน และแมลงในอันดับออร์ธอปเธอราบางชนิดที่พบในอุทยานแห่งชาติภูพาน ระหว่างเดือนมกราคม 2540-มกราคม 2543

## วิธีการ

เก็บตัวอย่างสัตว์เดือนละครั้ง แบ่งสัตว์จำนวนหนึ่งมาศึกษาลักษณะภายนอกเพื่อจำแนกชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ อีกจำนวนหนึ่งที่ยังมีชีวิตนำมาศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ โดยใช้สาร phytohemagglutinin กระตุ้นการแบ่งเซลล์ และใช้สาร colchicine เพื่อหยุดการแบ่งเซลล์ในระยะเมตาเฟส จากนั้นนำเซลล์จากไขกระดูกของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกแและสัตว์เลื้อยคลาน และเซลล์จาก hepatic caeca ของแมลง (เป็นอวัยวะอยู่ระหว่างทางเดินอาหารส่วนต้นและส่วนกลาง) วางบนสไลด์และย้อมด้วยสี Giemsa ตรวจหาเซลล์ที่แบ่งเซลล์ในระยะเมตาเฟสด้วยกล้องจุลทรรศน์ เมื่อพบเซลล์ที่มีโครโมโซมกระจายดี นับจำนวนโครโมโซมในแต่ละเซลล์อย่างน้อย 10 เซลล์ ถ่ายรูปด้วยกำลังขยายของเลนซ์วัตถุ 100 เท่า นำโครโมโซมมาจัดคู่โดยเรียงจากคู่ที่มีขนาดใหญ่สุดไปหาเล็กสุด วัดความยาวของแขนของโครโมโซม คำนวณค่า centromeric index (CI) เพื่อใช้ประเมินลักษณะและชนิดของโครโมโซม จำแนกขนาดของโครโมโซมโดยใช้เกณฑ์ดังนี้ โครโมโซมขนาดใหญ่ (L) คือ โครโมโซมที่มีขนาดใหญ่มากกว่าครึ่งหนึ่งของผลรวมของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุดและคู่ที่เล็กที่สุด โครโมโซมขนาดกลาง (M) คือ โครโมโซมที่มีขนาดน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของผลรวมของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่สุดและคู่ที่เล็กที่สุด และโครโมโซมขนาดเล็ก (S) คือ โครโมโซมที่มีขนาดเล็กกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุด ส่วนการจำแนกชนิดคาริโอไทป์ใช้เกณฑ์ดังนี้ ถ้ามีโครโมโซมเพียงสองชนิด คือ ชนิด metacentric และ submetacentric chromosome จัดเป็น symmetric karyotype และ/หรือ มีชนิด telocentric และ acrocentric chromosome ปนอยู่ด้วยจัดเป็นแบบ asymmetric karyotype

## ผลการวิจัย

***สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (Amphibians)***

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก สำรวจได้ 23 ชนิด จัดอยู่ในอันดับ Gymnophion 1 ชนิด และอันดับ Anurans 22 ชนิด จำแนกเป็น 5 วงศ์ และได้ศึกษาคาริโอไทป์ 16 ชนิด ประกอบด้วย วงศ์ Bufonidae 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=22, วงศ์ Microhylidae 6 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=26-28, วงศ์ Ranidae 8 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 และวงศ์ Rhacophoridae 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 แต่ละชนิดมีสูตรคาริโอไทป์แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1

***สัตว์เลื้อยคลาน (Reptiles)***

สัตว์เลื้อยคลานสำรวจได้ 30 ชนิด อันดับ Squamata จำแนกเป็น 9 วงศ์ และได้ศึกษาคาริโอไทป์ 14 ชนิด ประกอบด้วย วงศ์ Gekkonidae 4 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=32-44, วงศ์ Agamidae 5 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม

2n=34-36, วงศ์ Scincidae 3 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=28-32 และวงศ์ Colubridae 2 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=30-32 ลักษณะโครโมโซมของสัตว์เลื้อยคลานต่างจากสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกคือ ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่และขนาดเล็ก และมีสูตรคาริโอไทป์แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1. อันดับ วงศ์ ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ จำนวนโครโมโซม และสูตรคาริโอไทป์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

| อันดับ (Order)<br>วงศ์ (Family)<br>ชื่อสามัญ | ชื่อวิทยาศาสตร์ | จำนวน<br>โครโมโซม<br>(2n) | สูตรคาริโอไทป์ |
|---|---|---|---|
| **1. Gymnophiona**<br>**1.1 Gymnophiidae**<br>1. งูดินสวน หรือเขียดงูสวน | *Ichthyophis kohtaoensis* Talor, 1960 | - | - |
| **2. Anurans**<br>**2.1 Bufonidae**<br>1. คางคกบ้าน | *Bufo melanosticus* Schneider, 1799 | 22 | $L_1^{M}+L_4^{Sm}+S_2^{M}+S_2^{Sm}+S_2^{A}$ |
| **2.2 Microhylidae**<br>1. อึ่งลาย | *Calluella guttulata* (Blyth), 1855 | 26 | $L_1^{M}+L_4^{Sm}+M_1^{Sm}+S_2^{M}+S_4^{Sm}+S_1^{A}$ |
| 2. อึ่งปากขวด หรืออึ่งเผ้า | *Glyphoglossus molossus* Gunther, 1868 | 26 | $L_1^{M}+L_5^{Sm}+M_1^{M}+S_1^{M}+S_5^{Sm}$ |
| 3. อึ่งอ่างก้นขีด | *Kaloula mediolineata* (Smith, 1917) | 28 | $L_1^{M}+L_3^{Sm}+M_1^{Sm}+S_2^{M}+S_6^{Sm}+S_1^{A}$ |
| 4. อึ่งอ่างบ้าน หรืออึ่งยาง | *K. pulchra* Gray, 1831 | 28 | $L_3^{M}+L_1^{Sm}+S_1^{M}+S_5^{Sm}+S_4^{A}$ |
| 5. อึ่งแม่หนาว | *Microhyla berdmorei* (Blyth, 1858) | 24 | $L_2^{M}+L_2^{Sm}+M_1^{M}+S_5^{Sm}+S_2^{T}$ |
| 6. อึ่งน้ำเต้า | *M. ornata* (Dumeril & Bibron, 1841) | - | - |
| 7. อึ่งขาคำ หรืออึ่งจิ๋วหน้าจั่ว | *M. pulchra* (Hallowell, 1861) | 24 | $L_1^{M}+L_3^{Sm}+M_2^{M}+S_1^{M}+S_5^{Sm}$ |
| 8. อึ่งลายแต้ม | *M. butleri* Boulenger, 1900 | - | - |
| 9.อึ่งข้างดำ | *M. heymonsi* Vogt, 1911 | - | - |
| 10. อึ่งหลังจุด<br>หรืออึ่งหลังขีด | *Micryletta inornata* (Boulenger, 1890) | - | - |
| **2.3 Ranidae**<br>1. เขียดจะนา<br>หรือเขียดทราย | *Occidozyga lima* (Gravenhorst, 1829) | 26 | $L_2^{M}+L_2^{Sm}+M_1^{M}+S_2^{M}+S_5^{Sm}+S_1^{A}$ |
| 2. เขียดหลังปุ่ม | *O. martensi* Peters, 1867 | 26 | $L_1^{M}+L_4^{Sm}+S_3^{M}+S_3^{Sm}+S_2^{A}$ |
| 3. เขียดบัว หรือเขียดจิก | *Rana erythraea* (Schlegel), 1837 | 26 | $L_1^{M}+L_4^{Sm}+S_3^{M}+S_3^{Sm}+S_2^{A}$ |
| 4. กบหลังไพล<br>หรือเขียดเหลือง | *R. lateralis* Boulenger, 1887 | - | - |
| 5. กบหลังขีด<br>หรือเขียดจิกปากแหลม | *R. macrodactyla* (Gunther, 1859) | 26 | $L_3^{M}+L_2^{Sm}+S_1^{M}+S_5^{Sm}+S_2^{A}$ |
| 6. เขียดตาโอด หรือกบอ่อง | *R. nigrovitata* (Blyth, 1855) | 26 | $L_1^{M}+L_3^{Sm}+M_1^{Sm}+S_6^{Sm}+S_2^{A}$ |
| 7. กบหนอง หรือเขียดอีโม่ | *R. limnocharis* Gravenhorst, 1829 | 26 | $L_2^{M}+L_3^{Sm}+S_1^{M}+S_4^{Sm}+S_3^{A}$ |
| 8. กบหงอน หรือกบจุก | *Limnonectus pileata* Boulenger, 1916 | 26 | $L_1^{M}+L_3^{Sm}+S_1^{M}+S_6^{Sm}+S_2^{A}$ |
| 9. กบนา | *Hoplobatrachus rugulosa* Wiegmann, 1835 | 26 | $L_1^{M}+L_4^{Sm}+S_1^{M}+S_5^{Sm}+S_2^{A}$ |
| **2.4 Rhacophoridae**<br>1. ปาดบ้าน<br>หรือเขียดตะปาด | *Polypedates leucomystax*(Gravenhorst, 1829) | 26 | $L_3^{M}+L_2^{Sm}+M_1^{M}+S_3^{M}+S_2^{Sm}+S_2^{A}$ |
| 2. ปาดตีนเหลือง | *Rhacophorus bipunctatus* Ahl, 1927 | - | - |

หมายเหตุ: $L_1^{M}$: L = ขนาดของโครโมโซม (L=Large, M=medium, S=small); 1=จำนวนคู่ของโครโมโซม; M = ชนิดของโครโมโซม (M=metacentric, Sm=submetacentric, T=telocentric, A=acrocentric chromosome)

ตารางที่ 2. อันดับ วงศ์ ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ จำนวนโครโมโซม และสูตรคาริโอไทป์ของสัตว์เลื้อยคลาน

| อันดับ (Order)<br>วงศ์ (Family)<br>ชื่อสามัญ | ชื่อวิทยาศาสตร์ | จำนวน<br>โครโมโซม<br>(2n) | สูตรคาริโอไทป์ |
|---|---|---|---|
| **1. Squamata**<br>**Suborder Sauria**<br>**1.1 Gekkonidae**<br>1. ตุ๊กแกบ้าน | *Gekko gecko* (Linnaeus, 1758) | 38 | $L_3^{Sm}+L_3^{T}+S_{11}^{T}+$<br>2 microchromosomes |
| 2. จิ้งจกหางแบน | *Cosymbotus platyurus* (Schneider, 1792) | 44 | $L_9^{T}+M_2^{T}+S_{11}^{T}$ |
| 3. จิ้งจกหางหนาม | *Hemidactylus frenatus* Dumeril & Bibron, 1836 | 32 | $L_1^{M}+L_2^{Sm}+L_5^{T}+M_1^{T}+S_3^{M}+S_3^{T}+S_1^{A}$ |
| 4. จิ้งจกหินสีจาง | *Gyhyra mutilata* (Wiegmann), 1835 | 38 | $L_1^{Sm}+L_5^{T}+M_7^{T}+S_6^{T}$ |
| 5. จิ้งจกดินลายจุด | *Phyllodactylus siamensis* Boulenger, 1898 | - | - |
| **1.2 Agamidae**<br>1. กิ้งก่าแก้ว | *Calotes emma* Gray, 1845 | 34 | $L_3^{M}+L_1^{Sm}+M_1^{M}+S_1^{M}+$<br>11 microchromosomes |
| 2. กิ้งก่าสวนหัวเงิน | *C. mystaceus* Dumeril & Bibron, 1837 | 34 | $L_2^{M}+L_1^{Sm}+M_2^{M}+S_1^{M}+$<br>11 microchromosomes |
| 3. กิ้งก่าสวนหัวแดง | *C. versicolor* (Daudin, 1802) | 34 | $L_2^{M}+L_1^{Sm}+M_2^{M}+S_1^{M}+$<br>11 microchromosomes |
| 4. กิ้งก่าบินปีกส้ม | *Draco maculatus* (Gray, 1845) | 34 | $L_3^{M}+L_1^{Sm}+M_1^{Sm}+S_1^{M}$<br>11 microchromosomes |
| 5. แย้ | *Leiolepis belliana* (Gray, 1827) | 36 | $L_2^{M}+L_2^{Sm}+M_1^{M}+S_1^{M}+$<br>12 microchromosomes |
| 6. ตะกอง, ลิ้ง | *Physignathus cocincinus* Curvier, 1929 | - | - |
| **1.3 Scincidae**<br>1. จิ้งเหลนบ้าน | *Mabuya multifasciata* (Kuhl, 1820) | 28 | $L_2^{M}+L_2^{Sm}+S_3^{M}+S_1^{Sm}+S_1^{A}$<br>5 microchromosomes |
| 2. จิ้งเหลนหลากหลาย | *M. macularia* (Blyth, 1853) | 32 | $L_2^{M}+L_2^{Sm}+S_3^{M}+S_2^{Sm}+$<br>7 microchromosomes |
| 3. จิ้งเหลนเรียวท้องเหลือง | *Riopa bowringii* (Gunther, 1864) | - | - |
| 4. จิ้งเหลนดินหางสั้ม | *Scincella rupicoa* (Smith, 1916) | - | - |
| 5. จิ้งเหลนภูเขาเกล็ดเรียบ | *Sphenomorphus maculatus* (Blyth, 1853) | 30 | $L_1^{M}+L_2^{Sm}+M_2^{M}+S_1^{Sm}+$<br>9 microchromosomes |
| **1.4 Lacertidae**<br>1. จิ้งเหลนน้อยหางยาว หรือ งูคา | *Takydromus sexlineatus* Daudin, 1802 | - | - |
| **Suborder Serpentes** | | | |
| **1.5 Uropeltidae**<br>1. งูก้นขบ | *Cylindrophis ruffus* (Laurenti, 1768) | - | - |
| **1.6 Colubridae**<br>1. งูเขียวดงหรืองูเขียวบอน | *Boiga cyanea* (Bibron & Dumeril), 1854 | - | - |
| 2. งูพงอ้อท้องเหลือง | *Calamaria pavimentata* Dumeril & Bibron, 1854 | - | - |
| 3. งูเขียวดอกหมาก | *Chrysopelea ornata* (Shaw), 1802 | - | - |
| 4. งูทางมะพร้าวเขียว | *Elaphe prasina* (Blyth), 1854 | - | - |
| 5. งูปลิง | *Enhydris plumbea* (Boie), 1827 | - | - |
| 6. งูเหลือมอ้อ<br>หรืองูหัวกระโหลก | *Homalopsis buccata* (Linnaeus), 1758 | 32 | $L_1^{M}+L_1^{Sm}+M_1^{M}+S_1^{M}+S_2^{Sm}+S_2^{A}+$<br>8 microchromosomes |
| 7. งูหมอก | *Psammodynastes pulverulentus* (Boie), 1827 | - | - |
| 8. งูลายสอใหญ่ หรืองูดางแห | *Xenochrophis piscator* (Schneider, 1799) | 30 | $L_1^{M}+M_2^{M}+M_1^{Sm}+M_1^{A}+$<br>10 microchromosomes |
| **1.7 Elapidae**<br>1. งูจงอาง | *Ophiophagus hannah* (Cantor, 1836) | - | - |
| **1.8 Viperdae**<br>1. งูกะปะ | *Calloselasma rhodostoma* (Boie), 1827 | - | - |
| 2. งูเขียวหางไหม้ท้องเหลือง | *Trimeresurus albolabris* Gray, 1827 | - | - |
| **1.9 Tuphlopidae**<br>1. งูดินใหญ่อินโดจีน | *Typhlops diardi* Schlegel, 1839 | - | - |

***แมลง (Insects)***

แมลงในอันดับออร์ธอปเธอรา สำรวจได้ 42 ชนิด จำแนกเป็น 5 วงศ์ และได้ศึกษาคาริโอไทป์ 29 ชนิด

ประกอบด้วยวงศ์ Acrididae 20 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=20-30, วงศ์ Gryllotalpidae 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=16, วงศ์ Gryllidae 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=12, วงศ์ Pyrogomorphidae 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และวงศ์ Tettigonidae 6 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=22-36 มีชนิดและขนาดของโครโมโซมต่างกันดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3. อันดับ วงศ์ วงศ์ย่อย ชื่อวิทยาศาสตร์ จำนวนโครโมโซม และสูตรคาริโอไทป์ของแมลงในอันดับออร์ธอปเธอรา

| วงศ์ (Family) | ชื่อวิทยาศาสตร์ | จำนวนโครโมโซม (2n) | สูตรคาริโอไทป์ |
|---|---|---|---|
| Order Orthoptera<br>1. Acrididae<br>1.1 Subfamily | 1. *Caryanda diminuta* Walker. | - | - |
| Acridinae | 2. *Ceracris fasciata* Brunner.V. Watenwyl | 24 | $L_5^T+M_4^T+S_3^T$ |
| | 3. *Chondracris rosea* Brunneri Uvarov. | 24 | $L_5^T+M_1^T+S_6^T$ |
| | 4. *Choroedocus illstris* Walker. | 24 | $L_6^T+M_2^T+S_4^T$ |
| | 5. *Eucoptacra binghami* Uvarov. | 22 | $L_4^T+M_5^T+S_2^T$ |
| | 6. *Gastrimargus* sp. | - | - |
| | 7. *Heteropternis* sp. | - | - |
| | 8. *Hieroglyphus banian* Fabricius | - | - |
| | 9. *Oedaleus* sp. | 20 | $L_1^T+M_7^T+S_2^T$ |
| | 10. *Phlaeoba antennata* Bruner. | - | - |
| | 11. *Phlaeoba* sp.1 | 24 | $L_6^T+M_1^T+S_5^T$ |
| | 12. *Pternoscirta cinctifemur* Walker. | 24 | $L_4^T+M_4^T+S_4^T$ |
| | 13. *Acrida* sp. 1 | 24 | $L_5^T+M_3^T+S_4^T$ |
| | 14. Acrida sp. 2 | 24 | $L_5^T+M_2^T+S_5^T$ |
| | 15. Acrida sp. 3 | 24 | $L_6^T+M_2^T+S_4^T$ |
| | 16. unknown sp. 1 (no. 9) | 24 | $L_6^T+M_2^T+S_4^T$ |
| | 17. unknown sp.2 (no. 105) | 24 | $L_6^T+M_2^T+S_4^T$ |
| 1.2 Subfamily Catantopinae | 1. *Catantops pingius,* Stall | 24 | $L_5^T+S_7^T$ |
| | 2. *Catantops* sp. | - | - |
| | 3. *Stenocatantops splendens* Thunberg | 24 | $L_4^T+M_2^T+S_6^T$ |
| 1.3. Subfamily Cyrltacanthacridinae | 1. *Pachyacris* sp. | 24 | $L_5^T+M_1^T+S_6^T$ |
| | 2. *Pachyacris vinosa* Walker. | 24 | $L_5^T+M_2^T+S_5^T$ |
| 1.4 Subfamily Eumastacidae | 1. *Tylotropidius varicornis* Walker. | 24 | $L_6^T+S_6^T$ |
| | 2. *Eyprepocnemis* sp. | 30 | $L_2^M+L_1^T+S_3^M+S_2^{Sm}+S_6^T+S_1^A$ |
| 1.5 Subfamily Oxyine | 1. *Oxya japonica japonica Thumberg* | 24 | $L_5^T+M_4^T+S_3^T$ |
| | 2. *O. hyla intricata Stal.* | 22 | $L_4^T+M_1^T+S_6^T$ |
| 2. Gryllotalpidae | 1.unknown sp.3 | 16 | $L_2^M+M_2^{Sm}+S_4^T$ |
| 3. Gryllidae | 1.*Brachytrypes portentosus* Licht. | 12 | $L_3^M+L_1^T+M_1^T+S_1^M$ |
| | 2.*Gryllus bimaculatus*, De Geer. | - | - |
| | 3. *Gryllus* sp. | - | - |
| 4. Pyrogomorphidae | 1. *Atractomorpha* sp. | 22 | $L_4^T+M_2^T+S_5^T$ |
| 5. Tettigonidae | 1. *Conocephalus maculatus* Le Guillon. | - | - |
| | 2. *Ducetia cruciata* , Brunner | - | - |
| | 3. *Ectadia* sp. | - | - |
| | 4. *Euconocephalus* sp. | 22 | $L_1^M+L_2^{Sm}+M_1^M+S_1^A+S_6^T$ |
| | 5. *Holochlora* sp. | - | - |
| | 6. *Mecopoda elongata* , Linnaeus. | 24 | $L_1^M+L_2^{Sm}+S_1^M+S_8^T$ |
| | 7. *Phylominus* sp. | 36 | $L_1^T+S_{17}^T$ |
| | 8. *Stibaroptera* sp. | - | - |
| | 9. unknown sp. 4 | 34 | $L_1^T+S_{16}^T$ |
| | 10. unknown sp. 5 | 22 | $L_1^M+L_2^{Sm}+M_1^M+M_1^A+S_6^T$ |
| | 11. unknown sp.6 | 28 | $L_1^M+L_1^{Sm}+L_1^T+S_2^M+S_3^{Sm}+S_3^T+S_3^A$ |

## บทสรุป

จากการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก 16 ชนิด ในอันดับ Anurans จำแนกเป็น 4 วงศ์

ได้แก่ วงศ์ Bufonidae 1 ชนิด, วงศ์ Microhylidae 6 ชนิด, วงศ์ Ranidae 8 ชนิด และวงศ์ Racophoridae 1 ชนิด วงศ์ Bufonidae 1 ชนิด คือ *Bufo melanosticus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 สอดคล้องกับการศึกษาของ Matsui et al. (1985) ซึ่งรายงานไว้ว่า *Bufo bufo* complex 6 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 แต่แตกต่างกันที่ c-banding pattern Parida et al. (1988) ศึกษาใน *Bufo stomaticus* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=22 เช่นกัน ซึ่ง Kuramoto (1990) ได้สรุปว่าสัตว์ในวงศ์ Bufonidae มีจำนวนโครโมโซม 2n=20-22 วงศ์ Microhylidae 6 ชนิดที่ศึกษาครั้งนี้ พบว่า *Calluella guttulata* และ *Glyphoglossus molossus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26, *Kaloula mediolineata* และ *K. pulchra* มีจำนวนโครโมโซม 2n=28 *Microhyla berdmorei* และ *M. pulchra* มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 การศึกษาครั้งนี้โดยเฉพาะในสกุล *Microhyla* สอดคล้องกับการศึกษาของ *Parida* and Mohanty-Hejmadi (1988) ได้รายงานว่า *M. ornata* จากประเทศอินเดีย มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 เช่นกัน นอกจากนี้ Kuramoto (1990) ได้สรุปเป็นรายงานว่าสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์ Microhylidae มีจำนวนโครโมโซม 2n=24-28 วงศ์ Ranidae ที่ศึกษามี 8 ชนิด พบว่า *Occidozyga lima, O. martensi, Rana erythraea, R. macrodactyla, R. nigrovitata, R. limnocharis, Limnonectus pileata* และ *Hoplobatrachus rugulosa* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 การศึกษาครั้งนี้โดยเฉพาะสกุล *Rana* สอดคล้องกับของ Kuramoto (1989) ซึ่งรายงานว่า *R. temporaria* และ *R. everetti* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 แต่มีจำนวน supernumerary chromosome ต่างกันคือ มีจำนวน 4 และ 1 ตามลำดับ Matsui et al. (1995) รายงานว่า *R. exilispinosa* และ *R. livada* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 และในสกุลอื่นๆ เช่น สกุล *Amolops* ได้แก่ *A. hongkongenesis* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 นอกจากนี้ในสกุล *Staurois* เช่น *S. latopalmatus* ก็มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 เช่นกัน (Matsui and Seto, 1985) สรุปได้ว่าการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์ในวงศ์ Ranidae ไม่ว่าสกุลใดต่างมีจำนวนโครโมโซม 2n=26 นอกจากในการศึกษาครั้งนี้ ยังพบว่าในวงศ์ Racophoridae (พวกปาด) ได้แก่ *Polypedates leucomystax* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 เช่นกันด้วย

สัตว์เลื้อยคลานที่ศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ครั้งนี้ 14 ชนิดอันดับ Squamata จำแนกได้ 4 วงศ์ ประกอบด้วย วงศ์ Gekkonidae 4 ชนิด, วงศ์ Agamidae 5 ชนิด, วงศ์ Scincidae 3 ชนิด และวงศ์ Colubridae 2 ชนิด วงศ์ Gekkonidae ได้แก่ *Hemidactylus frenatus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32, *Gekko gecko* และ *Gyhyra mutilata* มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 และ *Cosymbotus platyurus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=44 จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนโครโมโซมของสกุล *Hemidactylus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32 ไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Ota et al. (1996) ซึ่งรายงานว่า *H. garnotti vietnamnesis* complex มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 ส่วนในสกุล *Gekko* พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 สอดคล้องกับการศึกษาของ Wu and Zhao (1984) ซึ่งรายงานว่า *Gekko gecko* มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 นอกจากนี้ Ota (1989) พบว่าในสกุล *Gekko* 5 ชนิด ได้แก่ *G. tawanenesis* และ *G. yaknesis* จากประเทศญี่ปุ่น มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 *G. kikuchi* จากประเทศญี่ปุ่น และ *G. smithii* จากประเทศไทย มีจำนวนโครโมโซม 2n=42 วงศ์ Agamidae 5 ชนิด ประกอบด้วย *Calotes emma, C. mystaceus* และ *Draco maculatus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=34 และ *Leiolepisi belliana* มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 และทั้ง 5 ชนิด มีโครโมโซม 2 ขนาด คือ ขนาดใหญ่ (macrochromosomes) 6 คู่ และที่เหลือเป็นขนาดเล็ก (microchromosomes) Dey et al. (1988) ได้ศึกษาในวงศ์ Agamidae แต่ต่างสกุลจากที่ศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ สกุล *Japalura* เช่น *J. variegata* จากประเทศอินเดีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=34 ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ 6 คู่ และขนาดเล็ก 11 คู่ สรุปว่า โครโมโซมของสัตว์เลื้อยคลานในวงศ์ Agamidae มีลักษณะเด่น คือ ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่สามารถจำแนกชนิดและขนาดของโครโมโซม และโครโมโซมขนาดเล็กที่ไม่สามารถจำแนกชนิดและขนาดของโครโมโซม วงศ์ Scincidae 3 ชนิดที่ศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ *Mabuya multifasciata* มีจำนวนโครโมโซม 2n=28, *Sphenomorphus maculatus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 และ *Mabuya macularia* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32 การศึกษาครั้งนี้ในสกุล *Mabuya* ได้แก่ Mabuya multifasciata ไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Makino and Asona (1950) ซึ่งรายงานว่า *M. multifasciata* และ *M. macularia* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32 ส่วนการศึกษาในสกุล *Sphenomorphus* สอดคล้องกับการศึกษาของ Ota and Lue (1994) ซึ่งรายงานว่า *S. indieus* และ *S. bonlengeri* จากประเทศไต้หวัน มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 วงศ์ Colubridae ที่ศึกษาครั้งนี้มี 2 ชนิด

ได้แก่ *Xenochrophis piscator* และ *Homalopsis buccata* มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 และ 32 ตามลำดับ ยังไม่มีรายงานว่ามีการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ในวงศ์ Colubridae

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของแมลงในอันดับออร์ธอปเธอราครั้งนี้ 29 ชนิด จำแนกเป็น 5 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Acrididae 20 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=20-30, วงศ์ Gryllotalpidae 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=16, วงศ์ Gryllidae 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=12, วงศ์ Pyrogomorphidae 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และวงศ์ Tettigonidae 6 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=22-36 แมลงในวงศ์ Acrididae 20 ชนิดที่ศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วยจำนวนโครโมโซม 2n=20 (1 ชนิด), 2n=22 (2 ชนิด), 2n= 24 (15 ชนิด) และ 2n=30 (1 ชนิด) จะเห็นว่าจำนวนโครโมโซมของตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Acrididae ส่วนใหญ่ที่ศึกษาครั้งนี้มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 เป็นแบบ telocentric chromosome Kayano (1971) รายงานว่า *Locusta migratoria* ตั๊กแตนหนวดสั้นชนิดหนึ่งที่ระบาด ทำลายความเสียหายแต่เกษตรกรรมทุกปีในประเทศไทย มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 เช่นกัน ส่วนในสกุลที่ต่างกันก็จะมีจำนวนโครโมโซมต่างกัน เช่น A-Saleh et al. (1985) ศึกษาใน *Poekilocerus bufonius* จากประเทศซาอุดิอาระเบีย มีจำนวนโครโมโซม 2n=20 López-León (1992) ศึกษาใน *Clorthippus jcobsi* มีจำนวนโครโมโซม 2n=18 แมลงในวงศ์ Tettigonidae ที่ศึกษาครั้งนี้ 6 ชนิด พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=22 (2 ชนิด), 2n=24 (1 ชนิด), 2n=28 (1 ชนิด) และ 2n=36 (1 ชนิด) และชนิดของโครโมโซมที่พบมีแบบ metacentric, submetacentric, telocentric และ acrocentric chromosome สรุปได้ว่า Karyotype เป็นแบบ asymmetric karyotype ในวงศ์ Tettigonidae (ตั๊กแตนหนวดยาว) มีจำนวนโครโมโซมต่างกันในแต่ละสกุล เช่น Beaudry (1973) รายงานว่า *Amblycorpha oblongifolia* และ *Scudderia curricuada* มีจำนวนโครโมโซม 2n=32 แมลงในวงศ์ Gryllidae (พวกจิ้งหรีด) ที่ศึกษาครั้งนี้ 1 ชนิด คือ *Brachytrypes portentosus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=12 Lim et al. (1969) ศึกษาแมลงในวงศ์ Gryllidae พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=20-32 และ Handa et al. (1985) ศึกษาแมลงในวงศ์ Gryllidae จากประเทศอินเดีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=12-30 จะเห็นว่าจำนวนโครโมโซมของแมลงในวงศ์ Gryllidae มีความหลากหลายมาก

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์สะเทินบกสะเทินน้ำ, สัตว์เลื้อยคลาน และแมลงบางชนิดในอุทยานแห่งชาติภูพานครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับความหลากหลายของสัตว์ในอุทยานแห่งชาติภูพานเพื่อใช้ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ ความแปรผันทางพันธุกรรม และศึกษาสายวิวัฒนาการของสัตว์ เปรียบเทียบกับสัตว์ในสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 139010 และขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้สถานที่ในการทำวิจัย ดร.บุบผา สินชัย ภาควิชากีฏวิทยา กรมวิชาการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่อนุเคราะห์จำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ของแมลง อาจารย์ ปรียะวุฒิ วัชรานนท์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อนุเคราะห์จำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก และสัตว์เลื้อยคลาน

## เอกสารอ้างอิง

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2535. ข้อมูลพื้นฐานรายงานฉบับสมบูรณ์ *แผนแม่บทอุทยานแห่งชาติภูพาน เล่ม 2*

ภัทรกร แถวไธสงค์. 2544. คาริโอไทป์ของจิ้งหรีดบางชนิด. รายงานโครงงานวิจัยนักศึกษาชั้นปีที่ 4. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Al-Saleh, A., A. Jamella and M. A. KHAN. 1985. First description of karyotype of the grasshopper *Poekilocerus bufonius* from Saudi Arabia. *Cytologia* 50: 361-365.

Beaudry, J. R. 1973. Use analydes complements chromosomiques de certains Orthopteras du Quebee et sa significant taxonomique et evolutionaire. *Can. J. Genet. Cytol*. 15: 155-170.

Dey, S. K., W. Henry and A. RAI. 1988. Chromosome of agamid lizard *Japalura variegata* Gray. (Retilia Agamidae). *CIS* 45: 8-10.

Duellman, W. E. and L. Trueb. 1990. *Biology of Amphibian*. pp 445-459. McGraw-Hill book company, New York.
Handa, S. M., D. P. Kittal and S. Sehgel. 1985. Cytology of ten species of crickets from Chandigarh (India). *Cytologia* 50: 711-724.
Kayano, H. 1971. Accumulation of B-chromosome in the germ-line of *Locusta migratoria*. *Heredity*. 27: 119-123.
King, M. 1973. Karyotype studies of some Australian scincidae (Retilia). *Aust. J. Zool*. 21: 21-23.
Kuramoto, M. 1989. Karyological studies on some Phillipine frogs. *In* M. Matsui, T. Hikida and R. C. Goreis (eds), "Current Herpetology in East Asia, pp. 115-121. Herpetological Society *of Japan*, Kyoto.
Kuramoto, M. 1990. A list of chromosome numbers of anura amphibians. *Bull Fukuoka Univ*. Educ. 39: 83-127.
Lim, H., V. R. Vickery and D. K. Deven. 1969. Cytological studies of Antipodean teleogryllus species and their hybrids (Orthoptera: Gryllidae). *Can. J. Zool.* 47: 189-196.
Lo'pez-Leon, M. D., J. Cabrero and J. P.M. Camacho. 1992. Male and female segregation distortion for heterochromatic supernumerary segment on the $S_8$ chromosome of grasshopper *Chorthippus jacobsi. Chromosoma* 101: 511-516.
Makino, S. and J. J. Asona. 1950. A karyotype study in some Indian species of *Lacertilia. Intergative Res. Genet* 1: 75-78. (In Japanese with English summery)
Matsui, M. and T. Seto. 1985. Karyotype of an Asian Ranid frog*, Stanrois latopalmatus. Japanese J. of Herpetology* 11(1): 1-4.
Matsui, M., T. Seto, Y. Kohsaka and L.J. Borkin. 1985. Bearing of chromosome C-banding patterns on the classification of Eurpean toads of the *Bufo bufo* complex. *Amphibia-Reptilia* 9: 23-33.
Matsui, M., H. Ota, M. W. Lua and A. Bokadek. 1995. Cytotaxonomic studies of three Ranid species (Amphibia: Anura) from Hong Kong. *Japanese J. of Herpetology* 16: 12-18.
Ota, H. 1989. Karyotype of five species of *Gekko* (Gekkonidae: Lacertilia) from East and Southeast Asia. *Herpetologia*. 45: 438-443.
Ota, H., T. Hikida, M. Matsui and A. Mori. 1991. Karyotype of two water shinks of the Genus *Tropidophorus.* (Reptilia: Squamata) from borneo. *J. of Herpetology* 25(4): 488-490.
Ota, H. T. Hikida, M. Matsui and A. Mori. 1992. Karyotype of two species of the Genus *Cyrtodactylus* (Squamata: Gekkonidae) from Savawak, Malaysia. *Cytologia* 45(1): 43-49.
Ota, H. and K. Y. Lue. 1994. Karyotype of two Lygosomines shinks of Genus *Tropidophorus.* from Taiwan. *J. Of Herpetology* 28(2): 253-255.
Ota, H., T. Hikida, M. Matsui, T. Chau-ard and J. Nabhitabhata. 1996. Discovery of a diploid population of the *Hemidactylus garnotii vietnamensis* complex (Reptilia: Gekkonidae). Genetica. 97: 81-85.
Ota, H., T. Hikida, M. Matsui, M. Masegawa, D. Labang and J. Nabhitabhata. 1996. Chromosomal variation in the scincid Genus *Mabuya* and its arboreal relatives (Reptilia: Squamata). *Genetica* 98: 87-94.
Parida, S. and P. Mohanty-Hejmadi. 1988. Preliminary report on the somatic chromosome of the ornate frog, *Microhyla ornata* (Dumeril and Bibron) Anura: Microhylidae from Bhubaneswar, India. *CIS* 44: 19-21.
Parida, S., S. K. Dutta and Mohanty-Hejmadi. 1988. Study of somatic chromosome of the toad, *Bufo stomaticus* Lutkan (Anura: Bufonidae) from Orissa, India. *CIS* 44: 16-19.
Wu, G. and E. Zhao. 1984. Studies on karyotypes of *Gekko gecko and Gekko supalmatus*. *Acta Herpetologia Scinca*. 3: 61-64. (in Chinese with English abstracrt.)
Zug, G.R. 1993. Herpelology: An Introductory biology of Amphibians and Reptiles. McGraw-Hill book company, New York.

# การศึกษาคาริโอไทป์ของสิ่งมีชีวิต

**วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล[1], เพลินพิศ โชคชัยชำนาญกิจ[1], ละเอียด คงกุ่ง[1],**
**พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์[1], ผุสตี ปริยานนท์[2] และมงคล เกษประเสริฐ[3]**

[1]สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[3]กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

**Abstract: Karyotypic Study of Living Organisms**
Warawut Chulalaksananukul et al.

The karyotypes of some plants (*Amorphophallus* spp) and animals (*Rana rugulosa* and *Bufo* spp) were investigated. Firstly, research on *Rana rugulosa* focused on their karyotypes and sex chromosomes which have not yet been identified. This study compared the karyotypes between males and females by using conventional staining methods. It was found that the chromosome numbers and chromosome structure in both males and females were similar (2n=26). G-band and C-band stainings were conducted in order to indicate the positions of the nucleolar organizer regions and also to check on the type of replication banding. It was found that the 13 pairs of chromosomes were homomorphic since no differences in each pair of chromosomes were deteced between these male and female frogs. In addition, a survey and karyotypic study of 4 species of toads in the genus *Bufo* in Thailand namely *Bufo melanostictus* Schneider, *Bufo asper* Garvenhost, *Bufo macrotis* Boulenger and *Bufo parvus* Boulenger was conducted. The results showed that all four species have the same chromosome numbers (2n=22), and the chromosomes are relatively identical in shape and size. Chromosomal studies of only two species of *Bufo* have previously been reported. They were *B. melanosticus* and *B. parvus*, whose karyotypic formula was not revealed in those studies. Therefore, this karyotypic study of the genus *Bufo* in Thailand can be considered to be complete. The last research comprised karyotic studies of 14 species of elephant yams in the genus *Amorphophallus*, Family Araceae and a species of the genus *Tacca*, Family Taccaceae. From the 15 species studied, eight species each had a chromosome number of 2n=26 and seven species each had a chromosome number of 2n=28. All of the elephant yams had an asymmetrical karyotype. The chromosome numbers of two species, *Amorphophallus campanulatus* Bl. Ex Decne. and *Tacca leontopelaloides* Ktze., had previously reported. This is the first report of chromosome numbers for on the other 13 species of elephant yams.

**Key words:** *Rana rugulosa*, *Bufo*, karyotype

## บทนำ

เซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) เป็นการศึกษาถึงส่วนประกอบของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมจากรุ่นพ่อแม่ไปยังลูกหลาน โดยศึกษาลักษณะและพฤติกรรมของโครโมโซมที่อธิบายได้จากการมองเห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Halnan, 1989) นอกจากจะมีการศึกษาขนาดและรูปร่างของโครโมโซมด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาแล้ว ยังมีการศึกษาโดยการย้อมแถบสีโครโมโซม (chromosome banding) แบบต่างๆ ซึ่งจะช่วยอธิบายส่วนประกอบของโครโมโซม และจัดคู่ของโครโมโซมให้ถูกต้องยิ่งขึ้น ในการย้อมแถบสีโครโมโซมแต่ละแบบมีวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกันไป เช่น การย้อมแถบสีแบบจี จะทำให้บริเวณ heterochromatin ติดสีเข้ม และบริเวณ euchromatin ติดสีจาง (Clerk and Wall, 1996) ช่วยให้การจัดทำคาริโอไทป์ถูกต้องแม่นยำ และสามารถใช้ตรวจสอบการเกิด chromosome mutation (Gosden, 1994) การย้อมแถบสีแบบซี จะทำให้บริเวณ constitutive heterochromatin ติดสีเข้ม ช่วยให้การจัดทำคาริโอไทป์ถูกต้องแม่นยำ และใช้ศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Clerk and Wall, 1996) การย้อมแถบสีโครโมโซมด้วยวิธี Ag-NOR staining จะบอกตำแหน่งที่ตั้งของ nucleolus (Sumner, 1990) การย้อมด้วยวิธี BrdU-replication banding จะบอกได้ว่าส่วนใดของโครโมโซมเกิดการจำลองตัวเองก่อนหรือหลัง (Sumner, 1990; Clerk and Wall, 1996) ความรู้ทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในหลายๆ ด้าน เช่น การจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานใน

การปรับปรุงพันธุ์ นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการศึกษาโรคทางพันธุกรรมที่เกิดจากความผิดปกติของโครโมโซม หรือใช้ประโยชน์ในการจัดทำแผนที่ยีนบนโครโมโซม (Clerk and Wall, 1996)

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกเป็นกลุ่มหนึ่งที่มีการศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ เนื่องจากโครโมโซมของสัตว์กลุ่มนี้มีขนาดใหญ่ และมีจำนวนโครโมโซมน้อย นอกจากนี้ ยังมีประเด็นที่น่าสนใจในการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ เช่น การศึกษาโครโมโซมเพศ เนื่องจากโดยส่วนใหญ่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้อย่างชัดเจน (Schmid et al., 1979) และในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจำนวนน้อยที่พบโครโมโซมเพศนั้น ยังมีรูปแบบโครโมโซมเพศที่แตกต่างกัน ซึ่งนักวิทยาศาสตร์เชื่อว่า โครโมโซมเพศของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอยู่ในขั้นระหว่างกึ่งกลางของกระบวนการวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศ (Schmid et al., 1991; Solari, 1994) ดังนั้น การศึกษาโครโมโซมเพศจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ เพื่อให้ทราบถึงวิถีทางในการวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศของสัตว์มีกระดูกสันหลัง (Schmid et al., 1988) ซึ่งในการตรวจสอบโครโมโซมเพศในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกหลายชนิดจำเป็นต้องใช้เทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซม

สิ่งมีชีวิตโดยทั่วไปมีโครโมโซมแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ โครโมโซมร่างกาย (autosome) และโครโมโซมเพศ (sex chromosome, allosome หรือ gonosome) โดยโครโมโซมร่างกายเป็นโครโมโซมที่มีเหมือนกันในทั้งสองเพศของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน แต่ละคู่ของโครโมโซมจะมีขนาดและรูปร่างเหมือนกัน เรียกว่า homomorphic chromosome ส่วนโครโมโซมเพศ จะมีความแตกต่างกันในแต่ละเพศของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน และจะเกี่ยวข้องกับการกำหนดเพศ โครโมโซมเพศที่พบในสิ่งมีชีวิตทั่วๆ ไปมีอยู่ด้วยกัน 3 ระบบ คือ XO, XY และ ZW โดยระบบ XO ในเพศเมียจะมีโครโมโซมเพศ 2 แท่ง เป็น XX เมื่อมีการแบ่งแบบ meiosis เพื่อสร้างไข่ จะให้ไข่ที่มีโครโมโซมเพศเป็น X ทั้งหมด ส่วนเพศผู้จะมีโครโมโซมเพศเพียง 1 แท่ง เป็น XO เมื่อมีการแบ่งแบบ meiosis เพื่อสร้างสเปิร์ม จะให้สเปิร์มที่มีโครโมโซมเพศเป็น X ครึ่งหนึ่ง และสเปิร์มอีกครึ่งหนึ่งไม่มีโครโมโซมเพศ ระบบการกำหนดเพศแบบนี้พบในแมลงในอันดับ Orthoptera สำหรับระบบ XY เพศเมียจะมีโครโมโซมเพศ 2 แท่ง เป็น XX เมื่อมีการแบ่งแบบ meiosis เพื่อสร้างไข่ จะให้ไข่ที่มีโครโมโซมเพศเป็น X ทั้งหมด ส่วนเพศผู้จะมีโครโมโซมเพศ 2 แท่ง แต่มีรูปร่างต่างกันจึงเรียกเป็น XY เมื่อมีการแบ่งแบบ meiosis เพื่อสร้างสเปิร์ม จะให้สเปิร์มที่มีโครโมโซมเพศเป็น X ครึ่งหนึ่ง และสเปิร์มที่มีโครโมโซมเพศเป็น Y อีกครึ่งหนึ่ง ระบบการกำหนดเพศแบบนี้พบในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ส่วนในระบบ ZW มีลักษณะตรงกันข้ามกับระบบ XY คือ เพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็นแบบ XX ส่วนเพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็นแบบ XY แต่เพื่อไม่ให้เกิดความสับสนกับระบบ XY จึงใช้ ZZ และ ZW แทน ตามลำดับ ดังนั้น เมื่อมีการแบ่งแบบ meiosis ในเพศเมียเพื่อสร้างไข่ก็จะได้ไข่ครึ่งหนึ่งมีโครโมโซมเพศเป็น Z และไข่อีกครึ่งหนึ่งมีโครโมโซมเพศเป็น W ส่วนเพศผู้จะให้สเปิร์มที่มีโครโมโซมเพศเป็น Z ทั้งหมด ระบบการกำหนดเพศแบบนี้พบในพวกนก ผีเสื้อ ผีเสื้อกลางคืน และปลาบางชนิด (Burns and Bottino, 1989)

**การศึกษาโครโมโซมเพศในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก**

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ในช่วงแรกของศตวรรษที่ 19 เป็นที่ยอมรับกันว่าในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกไม่มีโครโมโซมเพศ (Solari, 1994) ต่อมาพบว่า สัตว์กลุ่มนี้บางชนิดมีโครโมโซมเพศที่มีรูปร่างแตกต่างกันอย่างชัดเจน และเมื่อมีการพัฒนาเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมขึ้น จึงได้นำเทคนิคนี้มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ทำให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมว่าโครโมโซมเพศบางชนิดมีรูปร่างเหมือนกัน แต่มีรูปแบบของแถบสีแตกต่างกัน ทำให้เชื่อว่าโครโมโซมเพศอยู่ในขั้นเริ่มต้นของการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง คือ มียีนที่เกี่ยวข้องกับการกำหนดเพศอยู่บนโครโมโซม แต่รูปร่างของโครโมโซมยังคงเหมือนกัน (Schmid et al., 1991; Solari, 1994) ดังนั้น การศึกษาโครโมโซมเพศจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ เนื่องจากในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกส่วนใหญ่ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ และการศึกษาจะช่วยให้ทราบลำดับวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศได้

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกแบ่งออกเป็น 3 อันดับ มีรายงานของรูปแบบโครโมโซมเพศดังนี้ (Schmid et al.,1991; Solari, 1994) Gymnophyona ได้แก่ พวกเขียดงู มีการศึกษาน้อยมากและไม่มีรายงานของโครโมโซมเพศ Caudata ได้แก่ พวกซาลามานเดอร์ มีรายงานรูปแบบของโครโมโซมเพศดังตารางที่ 1 และ Anura ได้แก่ พวกกลุ่มกบ เขียด อึ่ง

อ่าง คางคก และปาด มีรายงานรูปแบบของโครโมโซมเพศดังตารางที่ 2 จากตารางจะเห็นได้ว่า โครโมโซมเพศในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกไม่ได้เป็นรูปแบบเดียวกันทั้งหมด และความแตกต่างของโครโมโซมเพศไม่ได้มีรูปร่างที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนเหมือนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีก ซึ่งสามารถจำแนกรูปแบบความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ดังนี้ (Solari, 1994)

ตารางที่ 1. รูปแบบโครโมโซมเพศในกลุ่มซาลามานเดอร์ (Schmid et al., 1991)

| Species | รูปแบบโครโมโซมเพศ | ความแตกต่างของโครโมโซมเพศ |
|---|---|---|
| *Ambystoma laterale* | ZW | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *Aneides ferreus* | ZW | รูปร่างของโครโมโซมแตกต่างกัน |
| *Chiropterotriton dimidiatus* | ZW | Pericentric inversion |
| *Dendrotriton bromeliacea* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *D. cuchumatanus* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *D. rabbi* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Hydromantes ambrosii* | XY | รูปร่างของโครโมโซม และรูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *H. flavus* | XY | รูปร่างของโครโมโซม และรูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *H. imperalis* | XY | รูปร่างของโครโมโซม และรูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *H. intalicus* | XY | รูปร่างของโครโมโซม และรูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *Necturus alabamensis* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Ne. beyeri* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Ne. lewisi* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Ne. maculosus* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Ne. punctatus* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Nototriton picadoi* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *No. veraepacis* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *No. richardi* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Oedipina poelzi* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *O. parvipes* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *O. uniformis* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *O. pseudouniformis* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *O. altura* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *O. ignea* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Thorius pennatulus* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Th. dubitus* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y |
| *Triturus alpestris* | XY | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *Tr. cristatus* | XY | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *Tr. helveticus* | XY | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *Tr. italicus* | XY | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *Tr. marmoratus* | XY | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |
| *Tr. vulgaris* | XY | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน |

***สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่โครโมโซมเพศมีรูปร่างไม่แตกต่างกัน***

เป็นกลุ่มที่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าโครโมโซมคู่ใดเป็นโครโมโซมเพศ แต่อย่างไรก็ตาม อาจพบความแตกต่างของโครโมโซมเพศในกลุ่มนี้ได้ หากนำเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมที่เหมาะสมมาใช้ในการศึกษา ตัวอย่างในการศึกษาสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลุ่มนี้ เช่น Schmid (1978a) ศึกษาโครโมโซมในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในวงศ์ Bufonidae และ Hylidea จำนวน 22 ชนิด พบว่า 15 ชนิด ได้แก่ *Bufo bufo, B. calamita, B. parvus, B. viridis, B. americanus, B. boreas, B. compactilis, B. fowleri, B. punctatus, B. terrestris, B. valliceps, B. arenarum, B. marinus, B. mauritanicus.* และ *Pedostibes hosii* มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 ส่วนในอีก 3 ชนิด ได้แก่ *B. garmani, B. poweri* และ *B. regularis* มีจำนวนโครโมโซม 2n=20 และในอีก 4 ชนิด ได้แก่ *Hyla arborea, H. cinerea, H. septentrionalis* และ *Pseudacris ornata* มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 ซึ่งทั้ง 22 ชนิดนี้ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ Schmid (1978b) ศึกษาโครโมโซมในกบ 12 ชนิด พบว่าใน *Rana sphenocephala, R. palustris, R. catesbeiana, R. ridibunda, R. erythrea, R. esculenta, Pyxicephalus delalandii* และ *Chiromantis xerampelina* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 ส่วนใน *R. temporaria* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 และมี supernumerary chromosome ใน *Kaloula pulchra* มีจำนวน

โครโมโซม 2n=28 ใน *Leptopelis bocagei* มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และใน *Kassina wealii* มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 ซึ่งทั้ง 12 ชนิดนี้ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ Kuramoto (1980) ได้ศึกษาคาริโอไทป์ของกบ *R. amurensis coreana, R. plancyi choseinica, R. latouchii และ Ooeidozyga laevis* พบว่ามีโครโมโซมจำนวน 2n=26 และ *K. picta* มีจำนวนโครโมโซม 2n=28 แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ Nishioka et al. (1987) ศึกษาโครโมโซมของกบ *R. nigromaculata, R. brevipoda, R. plancyi chosinica, R. plancyi fukienensis, R. lessonae* และ *R. pipines* พบว่าทั้ง 6 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 เท่ากัน และไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ Nishioka et al. (1987) ศึกษาโครโมโซมของกบ *R. japonica, R. tsushimensis, R. amurensis coreana, R. temporaria* และ *R. sylvatica* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=26 ทั้ง 5 ชนิด และศึกษาโครโมโซมของกบ *R. ornativentris, R. chensinensis* และ *R. dybowskii* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=24 ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งทั้ง 8 ชนิดนี้ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ Schmid et al. (1988) ได้ศึกษาคาริโอไทป์ของกบ *Gastrotheca fissipes* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 และ *Flectonotus pygmaeus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=28 ทั้งสองชนิดนี้ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ Melo, Recoo-Pimentel and Giarettc (1995) ได้ศึกษาคาริโอไทป์ของกบ *Megaelosia massarti* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=28 และไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ และ Ota and Matsui (1995) ได้ศึกษาคาริโอไทป์ของกบ *Platymantis pelewensis* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้

ตารางที่ 2. รูปแบบโครโมโซมเพศในกลุ่มกบ เขียด อึ่งอ่าง คางคก ปาด

| Species | รูปแบบโครโมโซมเพศ | ความแตกต่างของโครโมโซมเพศ | อ้างอิง |
|---|---|---|---|
| *Buergeria buergeri* | ZW | รูปแบบของแถบสีแบบซี และ NOR แตกต่างกัน | Schmid et al., 1993 |
| *Centrolenella antisthenesi* | XY | รูปร่างของโครโมโซม และรูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน | Schmid et al., 1989 |
| *Crinia bilingua* | ZW | โครโมโซม W มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Z | Mahony, 1991 |
| *Eleutherodactylus maussi* | $XXA^Y$ | โครโมโซมเพศมีรูปแบบสลับซับซ้อน | Schmid et al., 1992 |
| *Eupsophus roseus* | XY | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน | Iturra and Veloso, 1989 |
| *E. migueli* | XY | รูปร่างของโครโมโซมแตกต่างกัน | Iturra and Veloso, 1989 |
| *Gastrotheca ovifera* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y | Schmid et al., 1988 |
| *G. pseustes* | $XY_b$, $XY_a$ | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน | Schmid et al., 1990 |
| *G. riobambae* | XY | โครโมโซม Y มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม X | Schmid et al., 1983 |
| *G. walkeri* | XY | โครโมโซม X มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม Y | Schmid et al., 1988 |
| *Leiopelma hochstetteri* | WO | Supernumerary chromosome | Green, 1988 |
| *L. hamiltoni* | ZW | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน | Schmid et al., 1991; Solari, 1994 |
| *Pyxicephalus adspersus* | ZW | โครโมโซม Z มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม W | Schmid, 1980 |
| *Rana esculenta* | XY | รูปแบบการจำลองตัวเองแตกต่างกัน | Schempp and Schmid, 1981 |
| *R. narina* | XY | โครโมโซม Y มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม X | Kuramoto, 1980 |
| *R. rugosa* | ZW,XY | รูปแบบของแถบสีแบบซี และรูปแบบการจำลองตัวเองแตกต่างกัน | Nishioka et al., 1994 |
| *Tomopterna delalandi* | ZW | รูปแบบของแถบสีแบบซีแตกต่างกัน | Schmid et al., 1991 |

***สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่โครโมโซมเพศมีขนาดและรูปร่างต่างกัน***

กลุ่มนี้โครโมโซมเพศจะมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน คือ โครโมโซมแท่งหนึ่งมีขนาดเล็กกว่าอีกแท่งหนึ่ง หรือโครโมโซมเพศทั้งสองแท่งมีขนาดเท่ากันแต่มีรูปร่างต่างกัน เช่น Kuramoto (1980) ศึกษาโครโมโซมในกบ *R. narina* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 8 เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY โดยโครโมโซม Y มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม X Schmid (1980) ศึกษาโครโมโซมในกบ *P. adspersus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 8 เป็นโครโมโซมเพศชนิด ZW โดยโครโมโซม W มีขนาดเล็กกว่าโครโมโซม Z Schmid et al. (1983) ศึกษาโครโมโซมในกบ *G. riobambae* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 4 เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY โดยโครโมโซม Y มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซม X Nardi et al. (1986) ได้ศึกษาโครโมโซมของซาลามานเดอร์ *Hydromantes intalicus, H. ambrosii, H. imperialis, H. flavus* และ *H. specie nova* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=28 โครโมโซมคู่ที่ 14 เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY โดยโครโมโซม X มีรูปร่างเป็น subtelotacentric ส่วนโครโมโซม Y มีรูปร่างเป็น submetacentric Schmid et al. (1988) ศึกษาโครโมโซมในกบ *G. walkeri*

และ *G. ovifera* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 2 และ 1 เป็นโครโมโซมเพศชนิด X และ Y ตามลำดับ โดยใน *G. walkeri* โครโมโซม X มีรูปร่างเป็น metacentric โครโมโซม Y มีรูปร่างเป็น submetacentric และมีขนาดเล็กกว่าโครโมโซม X และใน *G. ovifera* โครโมโซม Y มีขนาดเล็กกว่าโครโมโซม X เช่นกัน Schmid et al. (1989) ศึกษาโครโมโซมในกบ *Centrolenella antisthenesi* มีจำนวนโครโมโซม 2n=20 พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 6 เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY โดยโครโมโซม X และ Y มีความยาวเท่ากัน แต่มีอัตราส่วนของแขนโครโมโซม (arm ratio=แขนข้างยาว/แขนข้างสั้น) ต่างกัน คือ โครโมโซม Y มีแขนข้างสั้น สั้นกว่าโครโมโซม X Iturra and Veloso (1989) ศึกษาโครโมโซมของกบ *Eupsophus migueli* มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 14 เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY โดยโครโมโซม X และ Y มีขนาดเท่ากัน แต่โครโมโซม X มีรูปร่างเป็น telotacentric ส่วนโครโมโซม Y มีรูปร่างเป็น metacentric และ Mahony (1991) ศึกษาคาริโอไทป์ของกบ *Crinia bilingua* มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 12 เป็นโครโมโซมเพศชนิด ZW โดยโครโมโซม W มีรูปร่างเป็น submetacentric ส่วนโครโมโซม Z มีรูปร่างเป็น subtelotacentric และมีขนาดเล็กกว่าโครโมโซม W

***สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่โครโมโซมเพศมีรูปแบบของแถบสีแตกต่างกัน***

กลุ่มนี้ตรวจสอบโครโมโซมเพศได้ด้วยการย้อมแถบสีโครโมโซม เช่น replication banding pattern แถบสีแบบซี เป็นต้น โครโมโซมเพศจะมีรูปแบบของแถบสีแตกต่างกัน เช่น Schmid et al. (1979) ศึกษาโครโมโซมในซาลามานเดอร์ *Triturus alpestris alpestris* และ *T. helveticus helveticus* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=24 เมื่อทำการย้อมแถบสีแบบซี พบว่า โครโมโซมคู่ที่ 4 ใน *T. alpestris alpestris* และคู่ที่ 5 ใน *T. helveticus helveticus* เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY โดยพบว่าบริเวณส่วนปลายแขนข้างยาวของโครโมโซม Y มีบริเวณของ constitutive heterochromatin Schempp and Schmid (1981) ทำการย้อมแถบสีแบบต่างๆ ในกบ *R. esculenta* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=26 ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศจากการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบต่างๆ ยกเว้นการย้อมด้วยวิธี BrdU-replication banding จึงพบว่าโครโมโซมคู่ที่ 4 เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY โดยช่วงกลางของโครโมโซม Y จะมีการจำลองตัวช้า ทำให้พบว่าโครโมโซม Y มีขนาดยาวกว่าโครโมโซม X Iturra and Veloso (1989) ศึกษาโครโมโซมของกบ *E. roseus* มีจำนวนโครโมโซม 2n=30 ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศจากการย้อมสีแบบธรรมดา แต่เมื่อย้อมแถบสีแบบซีพบว่าโครโมโซมคู่ที่ 14 เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY โดยทั้งโครโมโซม X และ Y มีรูปร่างเป็น metacentric แต่ในโครโมโซม Y ไม่มี constitutive heterochromatin บริเวณ centromere ส่วนในโครโมโซม X มี constitutive heterochromatin บริเวณ centromere และ Schmid et al. (1993) ศึกษาคาริโอไทป์ของกบ *Buergeria buergeria* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 พบโครโมโซมเพศจากการย้อมสีแบบซี และ Ag-NOR staining โดยโครโมโซมคู่ที่ 7 เป็นโครโมโซมเพศชนิด ZW ซึ่งทั้งโครโมโซม Z และ W มีรูปร่างเป็น subtelotacentric แต่พบว่าโครโมโซม W จะมี nucleolar organizer region (NOR) และบริเวณนี้เป็น constitutive heterochromatin ซึ่งทั้งสองลักษณะนี้ไม่พบในโครโมโซม Z

***สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีโครโมโซมเพศชนิด supernumerary chromosome***

โครโมโซมเพศนี้มีลักษณะพิเศษที่พบเฉพาะในกบ *Leiopelma hochstetteri* (Green, 1988) ซึ่งจากการศึกษาคาริโอไทป์พบว่า มี regular chromosome จำนวน 22 แท่ง และมี supernumerary chromosome 0–26 แท่ง แตกต่างกันไปในแต่ละประชากรและในแต่ละเพศ โดยเพศเมียจะมี supernumerary chromosome มากกว่าเพศผู้เสมอ *L. hochstetteri* มีโครโมโซมเพศเป็นชนิด WO คือ เพศเมียมีโครโมโซมเพศ 1 แท่ง เรียกว่าโครโมโซม W แต่เพศผู้ไม่มีโครโมโซมเพศ และโครโมโซม W มี supernumerary chromosome ที่มีขนาดใหญ่ มองเห็นรูปร่างได้ชัดกว่า supernumerary chromosome อื่นๆ

***สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีโครโมโซมเพศแบบสลับซับซ้อน***

โครโมโซมเพศนี้พบในกบ *Eleutherodactylus maussi* (Schmid et al., 1992) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เพศเมียทั้งหมดมีจำนวนโครโมโซม 2n=36 มีโครโมโซมเพศเป็นชนิด XXAA ส่วนเพศผู้เกือบทั้งหมดมีจำนวนโครโมโซม 2n=35 มีโครโมโซมเพศเป็น $XXA^{Y}$ โดยโครโมโซม $A^{Y}$ เกิดขึ้นจาก centric fusion ระหว่างโครโมโซม Y และโครโมโซมร่างกาย ในการศึกษานี้ยังพบว่ามีเพศผู้ 1 ตัว มีจำนวนโครโมโซม 2n=36 เหมือนกับในเพศเมีย มีโครโมโซมเพศเป็นชนิด XYAA เนื่องจากโครโมโซม Y ไม่เกิด centric fusion กับโครโมโซมร่างกาย เป็นลักษณะของบรรพบุรุษของเพศผู้ที่มีโครโมโซมเพศเป็นชนิด $XXA^{Y}$

***สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีโครโมโซมเพศหลายรูปแบบ***

รูปแบบโครโมโซมเพศนี้จะพบว่า สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบางชนิดจะมีโครโมโซมเพศมากกว่า 1 รูปแบบ เช่น Schmid et al. (1990) ได้ศึกษาโครโมโซมในกบ *G. pseustes* พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 และจากการศึกษาด้วยการย้อมแถบสีแบบซี พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 5 เป็นโครโมโซมเพศชนิด XY ซึ่งโครโมโซม Y มี 2 รูปแบบ เป็น $Y_A$ และ $Y_B$ โดยมีความแตกต่างกันที่บริเวณแขนข้างยาวของ $Y_B$ จะมีส่วนของ constitutive heterochromatin ยื่นยาวออกมา ส่วนบริเวณแขนข้างยาวของ $Y_A$ ไม่มีส่วนของ constitutive heterochromatin ซึ่งเป็นรูปแบบเดียวกับโครโมโซม X Nishioka et al. (1994) ศึกษาโครโมโซมในกบ *R. rugosa* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 เมื่อตรวจสอบด้วยการย้อมแถบสีแบบซี และ replication banding พบว่ามีโครโมโซมคู่ที่ 7 เป็นโครโมโซมเพศ โดยในแต่ละประชากรมีรูปแบบของโครโมโซมเพศต่างกัน สามารถแบ่งโครโมโซมเพศออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีโครโมโซมเพศเป็นชนิด ZW กลุ่มที่ 2 มีโครโมโซมเพศเป็นชนิด XY กลุ่มที่ 3 ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ และไม่ทราบว่าระบบการกำหนดเพศเป็นแบบใด และกลุ่มที่ 4 ไม่สามารถแยกความแตกต่างของโครโมโซมเพศได้ แต่จากการตรวจสอบโดยการกลับเพศ (sex reversed) พบว่ามีระบบการกำหนดเพศเป็นชนิด XY

## การศึกษาโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย ส่วนใหญ่มีเพียงการรายงานจำนวนโครโมโซม ดังตารางที่ 3 มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมเพศเพียงชนิดเดียว คือ การศึกษาโครโมโซมเพศของกบบลูฟร็อก (*R. catesbeiana*) ซึ่งไม่พบโครโมโซมเพศ (วรวุฒิ และคณะ, 2540)

***การตรวจสอบโครโมโซมเพศของกบนา (Rana rugulosa)***

นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่า สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีโครโมโซมเพศที่อยู่ในขั้นระหว่างกึ่งกลางของกระบวนการวิวัฒนาการ และมีสมมติฐานเกี่ยวกับวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศที่เสนอโดย Ohno (อ้างโดย Schmid et al., 1991) ซึ่งกล่าวว่า โครโมโซมเพศจะเริ่มต้นจากโครโมโซมที่มีขนาดและรูปร่างเหมือนกัน จากนั้นจะมีกลไกป้องกันการเกิด crossing over ของโครโมโซมคู่นี้บางส่วน หรือทั้งแท่งของโครโมโซม แล้วจึงมีการสะสม repetitive DNA ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ heterochromatin บนโครโมโซม Y หรือ W จากนั้นจึงเกิด inversion บนโครโมโซม Y หรือ W และในขั้นสุดท้ายจะส่งผลให้โครโมโซม Y และ W มีขนาดเล็กลง เกิดเป็นโครโมโซมเพศที่มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันอย่างชัดเจน

ตารางที่ 3. จำนวนโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย

| ชนิด | จำนวนโครโมโซม (2n) | อ้างอิง |
|---|---|---|
| กบจุก *(Rana pileata)* | 26 | ถาวร และคณะ, 2537 |
| กบนา*(Rana rugulosa)* | 26 | สุดสนอง และผุสดี 2531 |
| กบอกหนาม *(Rana fasciculispina)* | 26 | ถาวร และคณะ, 2543 |
| เขียดจิก *(R. erythraea)* | 26 | ถาวร และคณะ, 2534 |
| เขียดเหลือง *(R. laterlis)* | 26 | ถาวร และคณะ, 2535 |
| เขียดอีโม่ *(R. limnocharis)* | 26 | นงลักษณ์ และคณะ, 2534 |
| เขียดหลังปุ่ม *(Phrynoglossus martensi)* | 26 | ถาวร และคณะ, 2543 |
| คางคกบ้าน *(Bufo melanostictus)* | 22 | นงลักษณ์, 2518; ถาวร และประภาพร, 2533 |
| ปาดบ้าน *(Rhacophorus leucomystay)* | 26 | ถาวร และคณะ, 2535 |
| อึ่งกรายเอวจุด *(Kalophrynus pleurostigma)* | 26 | ถาวร และประจักษ์, 2542 |
| อึ่งขาคำ *(Microhyla pulchra)* | 24 | ถาวร และคณะ, 2537 |
| อึ่งปากขวด *(Glypholossus molossus)* | 26 | ถาวร และคณะ, 2535 |
| อึ่งแว่น *(Calluella guttulata)* | 26 | ถาวร และคณะ, 2535 |
| อึ่งอ่าง *(Microhyla ornata)* | 24 | นงลักษณ์, 2518 |
| อึ่งอ่างก้นขีด *(Kaloula mediolineata)* | 28 | ถาวร และคณะ, 1998 |
| อึ่งอ่างบ้าน *(Kaloula pulchra)* | 28 | ถาวร และประภาพร, 2533 |

การนำเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมมาศึกษากับสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกยังมีน้อยมาก และยังไม่มีการศึกษาโครโมโซมเพศของสัตว์กลุ่มนี้ในประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้ได้นำเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมมาใช้ในการตรวจสอบโครโมโซมเพศของกบนา (*Rana rugulosa*) ซึ่งเป็นกบพื้นเมืองที่พบอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย และคาดว่าจะทำให้ทราบถึงรูปแบบโครโมโซมเพศของกบนา และสามารถนำเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบต่างๆ ไปประยุกต์ใช้กับสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดอื่นๆ ต่อไป

การเตรียมโครโมโซมของกบนาเพศผู้และเพศเมียทำโดยเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Nishioka et al. (1994) จากนั้นหยดเซลล์ลงบนสไลด์ แล้วนำสไลด์ที่ได้มาย้อมสีแบบธรรมดา ย้อมแถบสีแบบจี ซึ่งดัดแปลงวิธีการของ Seabright (1971) ย้อมแถบสีแบบซีจากวิธีการของ Sumner (1972) และย้อมด้วยวิธี Ag-NOR staining จากวิธีการของ Hus (1981 อ้างโดย Green, 1988) ส่วนการย้อมด้วยวิธี Brdu-replication banding ต้องเตรียมโครโมโซมจากการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Takayama, Taniguchi and Iwashita (1981 อ้างโดย Nishioka et al., 1994) นำสไลด์ที่ได้จากการย้อมแถบสีแบบต่างๆ มาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการกระจายตัวดี จำนวนโครโมโซมครบ แถบสีชัดเจน ถ่ายรูปและนำรูปที่ได้มาจัดทำคาริโอไทป์ และเขียนเป็น idiogram เปรียบเทียบระหว่างกบนาเพศผู้และเพศเมีย

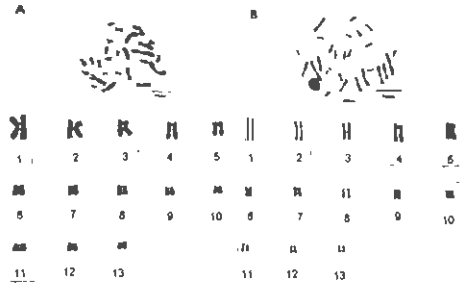
การย้อมสีแบบธรรมดาพบว่า กบนามีโครโมโซมจำนวน 13 คู่ (2n=26) เช่นเดียวกับรายงานของ สุดสนอง และผุสตี (2531) สามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ได้ดังภาพที่ 1 โครโมโซมทั้ง 13 คู่ ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ 5 คู่ โดยคู่ที่ 1, 2, 3 และ 5 มีรูปร่างเป็น metacentric ส่วนคู่ที่ 4 มีรูปร่างเป็น submetacentric และโครโมโซมขนาดเล็กอีก 8 คู่ โดยคู่ที่ 6, 7, 10 และ 13 มีรูปร่างเป็น metacentric และคู่ที่ 8, 9, 11 และ 12 มีรูปร่างเป็น submetacentric และยังพบ secondary constriction บนแขนข้างยาวของโครโมโซมคู่ที่ 8 ซึ่งโครโมโซมทั้ง 13 คู่ สามารถเขียนเป็น idiogram ได้ดังภาพที่ 2 ซึ่งจากการย้อมสีแบบธรรมดาพบว่าโครโมโซมทั้ง 13 คู่ เป็น homomorphic chromosome จึงยังไม่สามารถบอกได้ว่าโครโมโซมคู่ใดเป็นโครโมโซมเพศ ซึ่งไม่เป็นไปตามสมมติฐานเกี่ยวกับวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศที่เสนอโดย Ohno (1967 อ้างโดย Schmid et al., 1991) ที่กล่าวไว้ว่า โครโมโซมเพศที่มีวิวัฒนาการถึงขั้นสุดท้ายจะมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันอย่างชัดเจน แสดงว่าในกบนายังไม่มีวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศถึงขั้นสุดท้าย

รูปแบบของแถบสีแบบจีจะช่วยตรวจสอบว่าโครโมโซมมีการเกิด inversion หรือไม่ ซึ่งการเกิด inversion นี้เป็นขั้นตอนหนึ่งของวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศตามสมมติฐานเกี่ยวกับวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศที่เสนอโดย Ohno (1967 อ้างโดย Schmid et al., 1991) จากรูปแบบของแถบสีแบบจีของกบนาเพศผู้และเพศเมีย จัดเป็นคาริโอไทป์ได้ดังภาพที่ 3 สามารถเขียนเป็น idiogram ดังภาพที่ 4 พบว่าโครโมโซมทั้ง 13 คู่ ไม่แตกต่างกันระหว่างเพศผู้และเพศเมีย แสดงว่าโครโมโซมเพศในกบนายังไม่มีวิวัฒนาการถึงขั้นที่มีการเกิด inversion

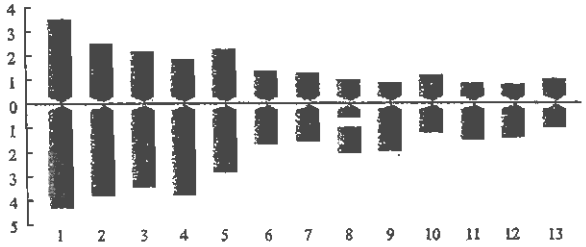
การย้อมแถบสีแบบซี จะช่วยตรวจสอบว่ามีวิวัฒนาการถึงขั้นที่มีการสะสม heterochromatin หรือไม่ ดังสมมติฐานเกี่ยวกับวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศที่เสนอโดย Ohno (1967 อ้างโดย Schmid et al., 1991) รูปแบบของแถบสีแบบซีของกบนาเพศผู้และเพศเมีย จัดเป็นคาริโอไทป์ดังภาพที่ 5 และสามารถเขียนเป็น idiogram ดังภาพที่ 6 ซึ่งพบว่ามี heterochromatin บริเวณ centromere ของโครโมโซมทั้ง 13 คู่ และพบ heterochromatin บริเวณ telomere ของโครโมโซมเกือบทุกคู่ แต่ยังไม่พบว่ามีโครโมโซมคู่ใดในเพศเมียหรือเพศผู้มีรูปแบบของแถบสีแตกต่างกัน แสดงว่าในกบนายังไม่มีวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศถึงขั้นที่มีการสะสม heterochromatin

ในการตรวจสอบตำแหน่งที่ตั้งของ nucleolus ถ้าพบว่าในโครโมโซมคู่ใดมีตำแหน่งที่ตั้งของ nucleolus เพียง 1 แท่ง แสดงว่าโครโมโซมคู่นั้นเป็นโครโมโซมเพศ เช่น กบ *Buergeria buergeria* (Schmid et al., 1993) พบว่าโครโมโซม Z มีตำแหน่งที่ตั้งของ nucleolus แต่ในโครโมโซม W ไม่มี จากผลการศึกษาที่ได้ พบแถบสีเข้มบนแขนข้างยาวของโครโมโซมคู่ที่ 8 ทั้งสองแท่ง ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ดังภาพที่ 7 สามารถเขียนเป็น idiogram ได้ดังภาพที่ 8 แสดงว่าโครโมโซมคู่ที่ 8 ในกบนาไม่ใช่โครโมโซมเพศ

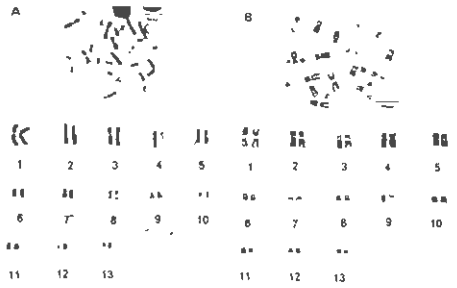
ในการย้อมด้วยวิธี BrdU-replication banding เป็นวิธีตรวจสอบว่ามีกลไกการป้องกันการเกิด crossing over หรือไม่ เช่น ในการศึกษาโครโมโซมเพศในกบ *Rana esculenta* (Schempp and Schmid, 1981) พบว่า บริเวณปลายแขนข้างยาวของโครโมโซม Y จะเกิดการจำลองตัวเองช้ากว่าโครโมโซม X ซึ่งการจำลองตัวเองช้าเป็นกลไกหนึ่งที่ป้องกันการเกิด crossing over ซึ่งเป็นขั้นตอนหนึ่งของวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศตามสมมติฐานเกี่ยวกับวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศที่เสนอโดย Ohno (1967 อ้างโดย Schmid et al., 1991) จากผลการศึกษาที่ได้ในกบนาเพศเมียและเพศผู้ จัดเป็นคาริโอไทป์ดังภาพที่ 9 สามารถเขียนเป็น idiogram ดังภาพที่ 10 พบว่ารูปแบบของแถบสีในกบนาเพศผู้และเพศเมียไม่แตกต่างกัน แสดงว่าไม่มีวิวัฒนาการถึงขั้นที่มีการป้องกันการเกิด crossing over



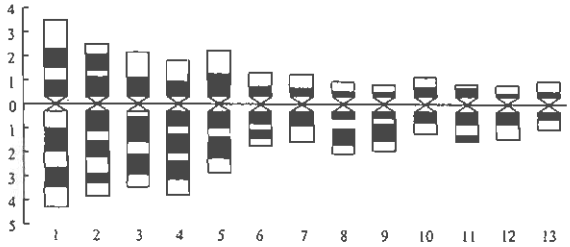
ภาพที่ 1. คาริโอไทป์ของกบนาเพศผู้ (A) และเพศเมีย (B)



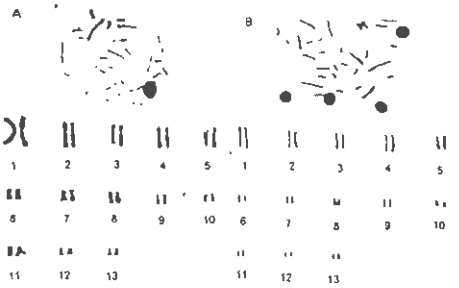
ภาพที่ 2. idiogram ของกบนา



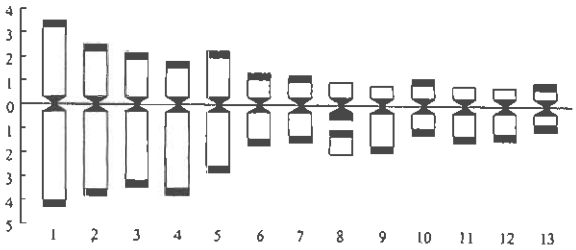
ภาพที่ 3. โครโมโซมระยะ metaphase และคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบจีของกบนาเพศผู้ (A) และ เพศเมีย (B)



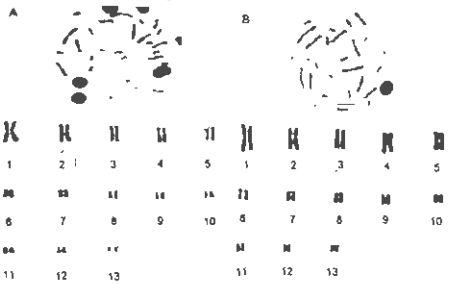
ภาพที่ 4. idiogram จากการย้อมแถบสีแบบจีของกบนา



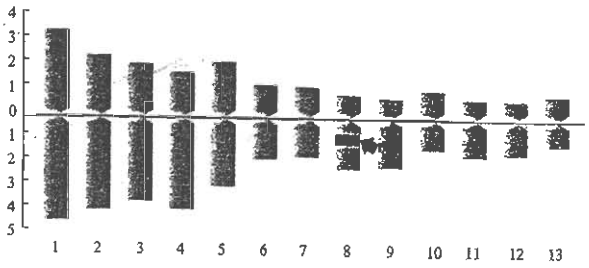
ภาพที่ 5. โครโมโซมระยะ metaphase และคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบซีของกบนาเพศผู้ (A) และ เพศเมีย (B)



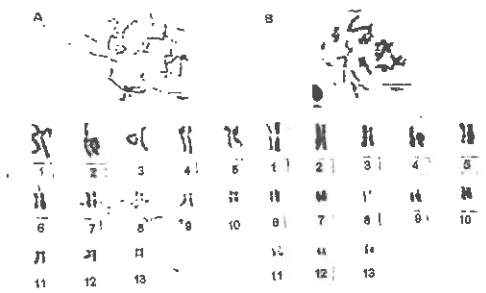
ภาพที่ 6. idiogram จากการย้อมแถบสีแบบซีของกบนา



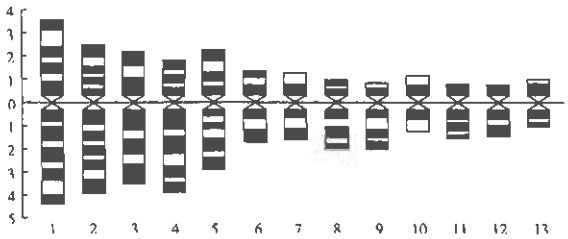
ภาพที่ 7. โครโมโซมระยะ metaphase และคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบ Ag-NOR staining ของกบนา เพศผู้ (A) และเพศเมีย (B)



ภาพที่ 8. idiogram จากการแถบสีแบบ Ag-NOR staining ของกบนา พบแถบสีเข้มบริเวณ secondary constriction บนแขนข้างยาวของโครโมโซมคู่ที่ 8 (ศรชี้)



ภาพที่ 9. โครโมโซมระยะ metaphase และคาริโอไทป์จากการย้อมแถบสีแบบ BrdU-replication banding ของกบนาเพศผู้ (A) และเพศเมีย (B)



ภาพที่ 10. idiogram จากการย้อมแถบสีแบบ BrdU-replication banding ของกบนา

การศึกษาโครโมโซมเพศในกบนา จากการย้อมแถบสีแบบต่างๆ พบว่ากบนามีจำนวนโครโมโซม 2n=26 ไม่พบโครโมโซมเพศจากการย้อมแถบสีแบบต่างๆ แสดงว่าโครโมโซมในกบนายังไม่มีวิวัฒนาการจนถึงขั้นที่มีโครโมโซมเพศ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาโครโมโซมเพศในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอื่นๆ ในประเทศไทยต่อไป เนื่องจากยังมีสัตว์กลุ่มนี้อีกเป็นจำนวนมากที่ยังไม่มีข้อมูลทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ และยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับโครโมโซมเพศ สิ่งที่น่าสนใจศึกษาต่อไปในอนาคต คือ การศึกษาโครโมโซมด้วยวิธี fluorescence in situ hybridization (FISH) ซึ่งเป็นการนำความรู้ทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์และ molecular genetics มาใช้ร่วมกัน โดยการเตรียม probe ที่มียีนที่จำเพาะในโครโมโซมเพศ จากนั้นใช้กระบวนการ in situ hybridization ระหว่าง probe กับโครโมโซม เพื่อตรวจสอบโครโมโซมเพศ ซึ่งจะได้ข้อมูลที่ชัดเจนและรวดเร็ว

***การศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล Bufo ในประเทศไทย***

การสำรวจสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยตั้งแต่เริ่มต้นจนถึง พ.ศ.2541 สรุปได้ว่า มีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทย 107 ชนิด จารุจินต์ (2531) และวิโรจน์ (2534) ได้รายงานการศึกษาสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจำพวกวงศ์คางคก Bufonidae ว่ามี 4 สกุล ได้แก่ *Ansonia* 2 ชนิด คือ คางคกห้วยมลายู (*Ansonia malayana*) และคางคกห้วยไทย (*Ansonia siamensis*), *Leptophryne* 1 ชนิด คือ คางคกขายาว (*Leptophryne borbonica*), *Pedostibes* 1 ชนิด คือ คางคกต้นไม้ (*Pedostibes hosii*) และ *Bufo* มีจำนวนมากที่สุดถึง 4 ชนิด คือ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider) จงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst) คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) และคางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger)

สัตว์ในกลุ่มนี้มีโอกาสเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากถูกจับมาเป็นอาหาร การทำลายพื้นที่ป่าไม้ และการสูญเสียแหล่งที่อยู่ในธรรมชาติจากไฟป่าและน้ำท่วม และที่สำคัญคือ การขาดความรู้พื้นฐานที่จะนำมาใช้ในการจัดการให้เหมาะสม เพื่อประโยชน์ในแนวทางการอนุรักษ์พันธุ์ (จารุจินต์, 2531) ปัจจุบัน กรมป่าไม้ออกพระราชบัญญัติให้คางคกสกุล *Bufo* 3 ชนิด คือ จงโคร่ง คางคกหัวราบ และคางคกแคระ เป็นสัตว์ป่าคุ้มครองประเภทที่ 1 คือ เป็นสัตว์ป่าซึ่งตามปกติไม่นิยมใช้บริโภคเป็นอาหาร หรือไม่ล่าเป็นเกมกีฬา แต่เป็นสัตว์ป่าที่ช่วยทำลายศัตรูพืช หรือขจัดสิ่งปฏิกูล หรือเป็นสัตว์ป่าที่ควรสงวนไว้ประดับความงามตามธรรมชาติ หรือสงวนไว้เพื่อมิให้จำนวนลดลง (สมชาย, 2540)

การศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกในสกุล *Bufo* มีผู้ศึกษาไว้บ้างแล้ว เช่น Ullerich (1966 อ้างโดย Beckert and Doyle, 1967) ทำการศึกษาคาริโอไทป์และปริมาณ DNA ใน *Bufo bufo*, *Bufo viridis* และ *Bufo calamita* พบว่าทุกชนิดมีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และมีรูปร่างคล้ายกัน เพียงแต่โครโมโซมของ *Bufo bufo* ยาวกว่าชนิดอื่น Bogart (1966) ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกในกลุ่มของ *Bufo regularis* ในประเทศอียิปต์ เคนยา แอฟริกาเหนือ ไนจีเรีย และโรดีเซีย พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=20 และอธิบายว่าคางคกสกุล *Bufo* ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=20 อาจมีถิ่นกำเนิดจากบรรพบุรุษดั้งเดิม และมีการแผ่ขยายอาณาเขตไปยังทวีปแอฟริกา ดังนั้น ถ้าจำนวนโครโมโซม 2n=20 เป็นจำนวนโครโมโซมที่เริ่มต้นของคางคกสกุลนี้ และจำนวนโครโมโซม 2n=22 เป็นจำนวนโครโมโซมที่เกิดการเปลี่ยน

แปลงแล้ว สรุปได้ว่าแอฟริกาเป็นถิ่นต้นกำเนิดของคางคกสกุล *Bufo* และแพร่ไปทั่วโลก Beckert and Doyle (1967) ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคก *Bufo marinus* โดยการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวและไขกระดูก ย้อมด้วยสี Giemsa ผลการศึกษาพบว่ามีจำนวนโครโมโซม 22 แท่ง และไม่มีโครโมโซมเพศ Cole et al. (1968) ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* 8 ชนิด ของอเมริกาเหนือ พบว่ามีคาริโอไทป์คล้ายกัน มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ metacentric และ submetacentric ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ 12 แท่ง และเล็ก 10 แท่ง Siboulet (1971 อ้างโดย นงลักษณ์, 2518) ศึกษาคาริโอไทป์ของคางคก *Bufo maritanicus* พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ metacentric และ submetacentric Schmid (1978a) ศึกษาส่วนประกอบของ heterochromatin และ NORs ของคางคกสกุล *Bufo* จำนวน 22 ชนิด และสรุปว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=22 นงลักษณ์ (2518) ศึกษาการเจริญเติบโตและคาริโอไทป์ของกบบัว (*Rana limnocharis*) อึ่งอ่าง (*Microphyla ornata*) และคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=26, 2n=24 และ 2n=22 ตามลำดับ

จากข้อมูลที่รวบรวมไว้ทั้งหมด เห็นได้ว่าคางคกสกุล *Bufo* ในประเทศไทยมี 4 ชนิด มีผู้ศึกษาคาริโอไทป์แล้ว 2 ชนิด คือ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=22 (นงลักษณ์, 2518) อีกชนิด คือ คางคกแคระ (*Bufo parvus*) มีรายงานการเก็บตัวอย่างในปี ค.ศ.1968 จากเขต Eurasia แต่ไม่ได้บอกว่าเป็นประเทศใด และศึกษาโครโมโซมพบว่ามีจำนวน 2n=22 (Schmid, 1978a) ส่วนอีก 2 ชนิด คือ จงโคร่ง (*Bufo asper*) และ คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) ยังไม่มีรายงานการศึกษาทางด้านคาริโอไทป์ นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาและนำโครโมโซมของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด มาเปรียบเทียบกัน ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไปในงานวิจัยนี้

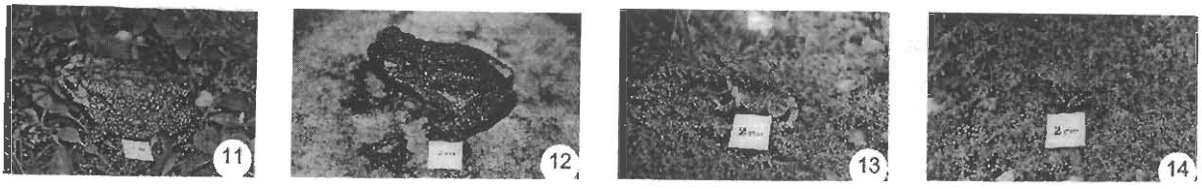
คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) เป็นชนิดเดียวที่พบทั่วทุกพื้นที่ของประเทศไทย และมีจำนวนมากที่สุด เป็นคางคกขนาดกลาง ลำตัวยาวประมาณ 80 มิลลิเมตร มีต่อม parotid ขนาดใหญ่ 1 คู่ คล้ายเมล็ดถั่ว เยื่อหูมีขนาดใหญ่กว่าตา 1/2 เท่า นิ้วเท้ามีพังผืดยึดประมาณ 1/3 ของฝ่าเท้า ดังแสดงในภาพที่ 11 เมื่อทำการศึกษาโครโมโซม พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ดังภาพที่ 15

จงโคร่ง (*Bufo asper*) พบบริเวณภาคตะวันตก และภาคใต้ของประเทศไทย มีขนาดใหญ่ที่สุด ลำตัวยาวประมาณ 100 มิลลิเมตร ต่อม parotid มีขนาดเล็ก ตายื่นโปนขึ้น ปลายจมูกเป็นรูปกรวยเฉียง เยื่อหูมีขนาด 1/3 ของตา เท้าหลังจะมีพังผืดยึดเกือบเต็มฝ่าเท้าทั้งสอง ดังแสดงในภาพที่ 12 เมื่อทำการศึกษาโครโมโซมพบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ดังภาพที่ 16

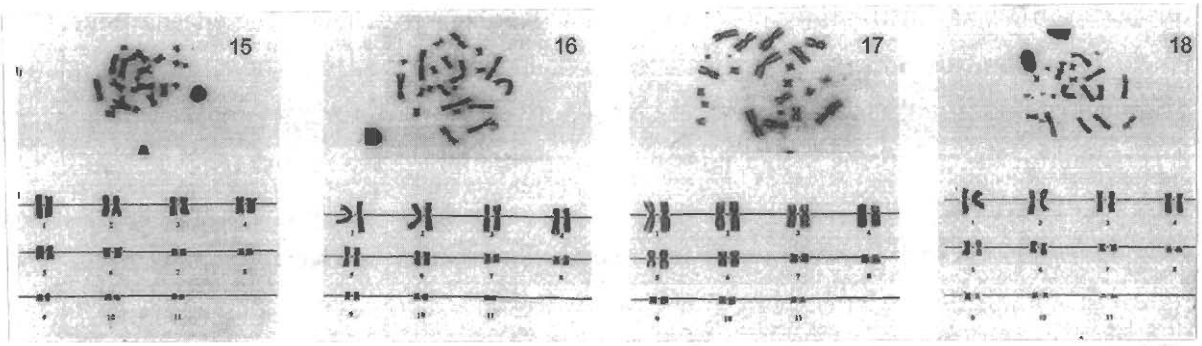
คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) พบบริเวณภาคตะวันตก มีขนาดเล็ก ลำตัวยาวประมาณ 45 มิลลิเมตร ต่อม parotid แบน ตายื่นโปน หัวค่อนข้างแบนไม่มีสัน เยื่อหูมีขนาดเกือบเท่าตา กลางหัวและพื้นที่ระหว่างตามีลายคล้ายอักษร A คางคกหัวราบสามารถแยกเพศได้ชัดเจนในฤดูผสมพันธุ์ โดยเพศผู้จะมีสีเหลืองสดมาก ส่วนเพศเมียจะมีสีน้ำตาลและผิวหนังขรุขระกว่าเพศผู้ ดังแสดงในภาพที่ 13 เมื่อทำการศึกษาโครโมโซมพบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ดังภาพที่ 17

คางคกแคระ (*Bufo parvus*) มีขนาดเล็กที่สุด ลำตัวยาวประมาณ 30 มิลลิเมตร จมูกแคบ มีสันกลางหัว 1 คู่ คล้ายรูปวงเล็บกลางหัว ต่อม parotid มีขนาดยาวมากกว่ากว้าง เยื่อหูมีขนาดประมาณ 3/4 ของตา ดังแสดงในภาพที่ 14 เมื่อทำการศึกษาโครโมโซมพบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 และสามารถจัดเป็นคาริโอไทป์ ดังภาพที่ 18

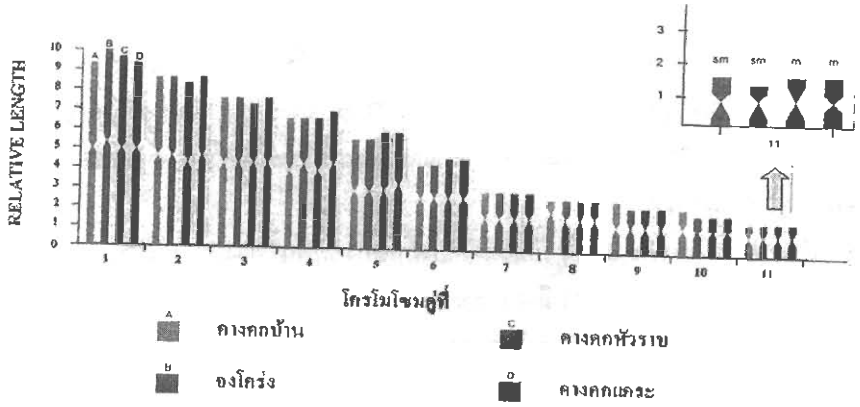
คาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด สามารถนำมาเขียนเป็น idiogram เปรียบเทียบกันได้ผลดังแสดงในภาพที่ 19




ภาพที่ 11-14. คางคกสกุล *Bufo*. 11) คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schneider) 12) จงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst) 13) คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) 14) คางคกแคระ (*Bufo* parvus Boulenger)




ภาพที่ 15-18. คาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* (กำลังขยาย x 1750 เท่า) 15) คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus* Schnelder) 16) จงโคร่ง (*Bufo asper* Gravenhorst) 17) คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis* Boulenger) 18) คางคกแคระ (*Bufo parvus* Boulenger)




ภาพที่ 19. idiogram เปรียบเทียบคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* 4 ชนิด

จากการศึกษาเปรียบเทียบคาริโอไทป์ของคางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิด ในประเทศไทย ซึ่งมีผู้ทำการศึกษาไว้แล้ว 2 ชนิด คือ คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) และ คางคกแคระ (*Bufo parvus*) คางคกบ้านมีจำนวนโครโมโซม 2n=22 ศึกษาคาริโอไทป์โดย นงลักษณ์ (2518) สามารถจัดสูตรคาริโอไทป์ได้ $L^{m}_{8+}L^{sm}_{2+}M^{m}_{2+}S^{m}_{8+}S^{sm}_{2}$ ซึ่งจะแตกต่างจากสูตรคาริโอไทป์ในการศึกษาครั้งนี้ คือ $L^{m}_{10+}S^{m}_{8+}S^{sm}_{4}$ อาจเนื่องจากมีมาตรฐานจำนวนมากในการจัดโครโมโซมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ซึ่งมีการใช้มาตรฐานการกำหนดชนิดของโครโมโซมที่แตกต่างกัน คือ นงลักษณ์ (2518) ใช้ค่า Centromeric Index (CI) ส่วนในการทดลองนี้ใช้ค่า Numerical Value of Centromere Position (NVC) สำหรับคางคกแคระ (Schmid, 1978a) ได้รายงานเฉพาะจำนวนโครโมโซมเท่านั้นว่ามีจำนวน 2n=22 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบคาริโอไทป์ทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=22 เท่ากัน และพบชนิดของโครโมโซมเพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือ metacentric และ submetacentric ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมในแต่ละชนิดของคางคกทั้งเพศผู้และเพศเมียในคางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) และจงโคร่ง (*Bufo asper*) จะพบเฉพาะโครโมโซมขนาดใหญ่และเล็ก ส่วนคางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) และคางคกแคระ (*Bufo parvus*) พบโครโมโซมขนาดกลางเพิ่มขึ้น 1 คู่ ชนิดของโครโมโซมที่แตกต่างกันของคางคกทั้ง 4 ชนิด พบในคู่ที่ 4 และ 11 ดังแสดงในตารางที่ 4 และสามารถสรุปสูตรคาริโอไทป์คางคกสกุล *Bufo* ทั้ง 4 ชนิดได้ดังนี้: คางคกบ้าน 2n=22; $L^{m}_{10}+S^{m}_{8}+S^{sm}_{4}$,จงโคร่ง 2n=22; $L^{m}_{8}+L^{Sm}_{2}+S^{m}_{8}+S^{sm}_{4}$, คางคกหัวราบ 2n=22; $L^{m}_{10}+M^{m}_{2}+S^{m}_{8}+S^{sm}_{2}$, คางคกแคระ 2n=22; $L^{m}_{8}+L^{Sm}_{2}+M^{m}_{2}+S^{m}_{8}+S^{sm}_{2}$

ตารางที่ 4. โครโมโซมคู่ที่แตกต่างของคางคกทั้ง 4 ชนิด

| ชนิดของคางคก | ชนิดของโครโมโซมคู่ที่ 4 | ชนิดของโครโมโซมคู่ที่ 11 |
|---|---|---|
| คางคกบ้าน (*Bufo melanostictus*) | metacentric | submetacentric |
| จงโคร่ง (*Bufo asper*) | submetacentric | submetacentric |
| คางคกหัวราบ (*Bufo macrotis*) | metacentric | metacentric |
| คางคกแคระ (*Bufo parvus*) | submetacentric | metacentric |

## การศึกษาคาริโอไทป์ของบุกวงศ์ Araceae ในประเทศไทย

บุกเป็นพืชล้มลุกชนิดหนึ่งในวงศ์ Araceae สกุล *Amorphophallus spp.* ในต้นฤดูฝนจะออกดอกก่อน เวลาบานจะส่งกลิ่นเหม็นมาก เมื่อดอกโรยจะมีใบงอกออกมาเพียงใบเดียว ก้านดอกและใบกลมยาว หน้าแล้งต้นจะตาย เหลือหัวอยู่ใต้ดิน พบในหลายประเทศ เช่น จีน ญี่ปุ่น อินเดีย บังคลาเทศ พม่า ไทย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เป็นพืชที่มีตามธรรมชาติมานานแล้ว อาจนับเป็นพันปี เกิดอยู่ในภูมิภาคต่างๆ ของโลก ทั้งในเขตอบอุ่นและเขตร้อนทั่วไป นักพฤกษศาสตร์และนักเคมีได้ทำการค้นหาเพื่อจำแนกชนิดและวิเคราะห์คุณภาพของสารในบุกมานานหลายสิบปี สำหรับประเทศไทยพบว่ามีชาวต่างชาติเข้ามาสำรวจชนิด และรายงานไว้เมื่อประมาณ 30 ปีมาแล้ว ทำให้ประเทศไทยมีรายงานชื่อชนิดของบุกไว้บ้างในหนังสือที่มีผู้คัดลอกรวบรวมพิมพ์ไว้เป็นภาษาไทย การค้นคว้าเรื่องบุกได้เริ่มขึ้นที่กรมวิชาการเกษตรเมื่อปี พ.ศ.2524 มีการเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ต่างๆ ทุกภาคของประเทศ นำมาศึกษาลักษณะและวงจรการเจริญเติบโต เพื่อคัดเลือกคุณภาพผลผลิต และเพื่อศึกษาหาแนวทางการใช้ประโยชน์เชิงอาหารและสมุนไพร (หรรษา และอรนุช, 2532) เนื่องจากบุกเป็นพืชที่มีความสำคัญทางการค้า การอุตสาหกรรม มีคุณค่าในด้านอาหารและยา และเป็นที่สนใจของผู้คนในหลายวงการ โดยเฉพาะสาร glucomannan ที่มีในหัวบุก ซึ่งใช้เป็นอาหาร ยา และอาหารเสริมสุขภาพ มีประโยชน์ในทางบำบัดรักษาโรคที่สำคัญหลายชนิด จึงมีนักวิทยาศาสตร์และนักวิชาการให้ความสนใจค้นคว้าเรื่องบุกในหลายๆ ด้าน เช่น สรีรวิทยา (physiology) สัณฐานวิทยา (morphology) ประโยชน์เชิงอาหารและสมุนไพร รวมทั้งการสำรวจรวบรวมและจำแนกชนิดของบุก การจัดจำแนกส่วนใหญ่จะใช้ลักษณะภายนอกและสรีรวิทยาเป็นเกณฑ์ แต่ยังขาดข้อมูลทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ โดยเฉพาะด้านโครโมโซม เช่น จำนวนโครโมโซม และคาริโอไทป์

การศึกษาโครโมโซมบุกที่ผ่านมาพบว่า มีการศึกษาโครโมโซมบุกในวงศ์ Araceae ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ ดังแสดงในตารางที่ 5 Darlington and Wylies (1955) รายงาน basic number ของบุกในวงศ์ Araceae สกุล *Amorphophallus* spp. และสกุล *Arisaema* spp. เท่ากับ 13 และ 14 Ramachandran (1977) ศึกษาคาริโอไทป์ของรากบุกในสกุล *Amorphophallus* 4 ชนิด ที่พบทางตอนใต้ของอินเดีย พบว่า *Amorphophallus hohenackeri* Engl. มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 มีขนาดโครโมโซมใหญ่ และมี symmetrical karyotype มากกว่าชนิดอื่น คือ มีโครโมโซมชนิด metacentric กับ submetacentric เท่านั้น สำหรับ *Amorphophallus campanulatus* Bl. และ *Amorphophallus dubius* Bl. มีจำนวนโครโมโซม 2n=28 มี karyotype คล้ายกัน คือ มีโครโมโซมชนิด metacentric submetacentric และ acrocentric สำหรับ *Amorphophallus bulbifer* Bl. มีจำนวนโครโมโซม 2n=3x=39 เป็น triploid แต่ไม่สามารถจับคู่โครโมโซมเป็นกลุ่มละ 3 แท่งเท่าๆ กันได้ แต่จะแบ่งโครโมโซมออกเป็นกลุ่มละ 2, 3 หรือ 4 แท่ง การศึกษานี้ทราบว่ามี basic number เท่ากับ 13 และ 14 ส่วนการศึกษา meiosis ในดอกของ *Amorphophallus campanulatus* Bl. โดยใช้วิธี acetocarmine smear พบว่ามี 14 bivalent Subramanian and Munian (1988) ศึกษาคาริโอไทป์ของพืชวงศ์ Araceae ที่พบทางตอนใต้ของอินเดียจำนวน 21 ชนิด โดยศึกษาจากรากด้วยวิธี iron alum hematoxylin squash พบจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ 2n=14 ถึง 2n=68 โดยเฉพาะบุกชนิด *Amorphophallus campanulatus* Blume, *Arisaema tortuosum* Schott. และ *Arisaema wightinum* Bhone. มีจำนวนโครโมโซม 2n=28 เท่ากัน แต่มีคาริโอไทป์แตกต่างกัน Mayo et al. (1997) กล่าวถึงจำนวนโครโมโซมของบุกในวงศ์ Araceae สกุล *Amorphophallus spp*. ว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=26, 28, 39 ส่วนบุกในสกุล *Arisaema spp.* มีจำนวนโครโมโซม 2n=20, 24, 26, 28, 39, 42, 48, 52, 56, 70, 72, 112, 140, 168 และสกุล *Pseudodracontium spp.* มีจำนวนโครโมโซม 2n=26

ในประเทศไทยพบบุกหลายชนิด และยังไม่มีการศึกษา ทั้งจำนวนโครโมโซม และคาริโอไทป์ งานวิจัยนี้จึงได้เริ่มต้นศึกษาบุก โดยปลูกหัวบุกที่เก็บมาจากแหล่งต่างๆ ในกระถาง เพื่อศึกษาโครโมโซมจากเซลล์ปลายราก เตรียมเซลล์ด้วยวิธี Feulgen squash ดัดแปลงจากวิธีของกันยารัตน์ (2532) โดยแช่รากบุกในสารละลาย alphabromonapthalene แล้ว fixed รากในสารละลาย acetic acid 90% ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ล้างรากด้วย ethanol 70% เก็บตัวอย่างรากใน ethanol 70% ที่ $10^0$C นำรากมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วนำไป hydrolysed ด้วยสารละลาย 1N HCl ที่อุณหภูมิ $60^0$C เป็นเวลาประมาณ 6-10 นาที ล้างรากด้วยน้ำกลั่น ย้อมรากด้วยสารละลาย Schiff's reagent เป็นเวลา 30 นาที จึงนำปลายรากเฉพาะส่วนที่มีสีแดงวางบนสไลด์ หยดสารละลาย propionocarmine 2% แล้วใช้ปลายปากคีบขยี้ให้เนื้อเยื่อแยกเป็นชิ้นเล็กๆ วาง cover slip จากนั้นใช้ดินสอด้านที่มียางลบเคาะเบาๆ บน

cover slip บริเวณที่มีเนื้อเยื่อสีแดง จนกลุ่มเซลล์สีแดงกระจายแยกออกจากกัน นำสไลด์ไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ในระยะ metaphase ที่มีการกระจายตัวของโครโมโซมดี ถ่ายรูป แล้วนำมาจัดทำคาริโอไทป์ และเขียน idiogram

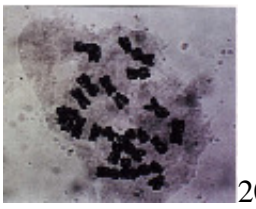
ตารางที่ 5. จำนวนโครโมโซมบุกในวงศ์ Araceae ที่มีการศึกษาแล้ว

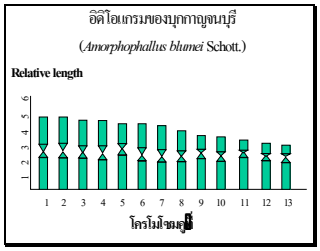
| ชนิดของบุก | จำนวนโครโมโซม | อ้างอิง |
|---|---|---|
| *Amorphophallus konjac* | 2n=26 | Takahashi (1930 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus konjac* | 2n=26 | Nakajima (1933 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema thumbergii* | 2n=28 | Nakajima (1933 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus campanulatus* Bl. ex Decne. | 2n=28 | Patel and Narayana (1937 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus campanulatus* Bl. ex Decne. | 2n=26 | Asana and Sutaria (1939 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus sylvaticus* | 2n=26 | Asana and Sutaria (1939 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus linumaana* | 2n=26 | Kishimoto (1941 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus kiusiana* | 2n=26 | Kishimoto (1941 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus konjac* | 2n=26 | Kishimoto (1941 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus satzumaensis* | 2n=26 | Kishimoto (1941 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema japonicum* | 2n=28 | Kishimoto (1941 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema taihokensis* | 2n=28 | Kishimoto (1941 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus kiusiana* | 2n=26 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus konjac* | 2n=26 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema kiushianum* | 2n=56 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema ovale* | 2n=56 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema robustum* | 2n=56 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema heterophyllum* | 2n=140 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema serratum* | 2n=28 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema thumbergii* | 2n=28 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema ringens* | 2n=28 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema limbatum* | 2n=28 | Ito (1942 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus bulbifer* Bl. | 2n=36 | Chandler (1943 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus titanum* Bl. | 2n=26 | Chandler (1943 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus rivieri* | 2n=32 | Malvesin – Fabre (1945 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus rivieri* | 2n=39 | Tjio (1948 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus rivieri* | 2n=26 | Storey (1954 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus konjac* | 2n=26 | Jones (1957 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Arisaema tortuosum* Schott. | 2n=24 | Sharma and Mukhopadhyay (1965) |
| *Amorphophallus campanulatus* Bl. ex Decne. | 2n=28<br>n=14 | Krishnan et al. (1970 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus titanum* | 2n=26 | Krishnan et al. (1970 อ้างโดย Ramachandran, 1978) |
| *Amorphophallus hohenackeri* Engl. | 2n=26 | Ramachandran (1977) |
| *Amorphophallus campanulatus* Bl. ex Decne. | 2n=28 | Ramachandran (1977) |
| *Amorphophallus dubius* Bl. | 2n=28 | Ramachandran (1977) |
| *Amorphophallus bulbifer* Bl. | 2n=3x=39<br>n=14 | Ramachandran (1977) |
| *Arisaema leschenaultii* Schott. | 2n=28 | Ramachandran (1978) |
| *Arisaema neglegtum* Schott. | 2n=28 | Ramachandran (1978) |
| *Arisaema wightii* Bl. | 2n=28 | Ramachandran (1978) |
| *Arisaema tortuosum* Schott. | 2n=56 | Ramachandran (1978) |
| *Amorphophallus campanulatus* Blume. | 2n=28 | Subramanian and Munian (1988) |
| *Arisaema wightinum* Bhone. | 2n=28 | Subramanian and Munian (1988) |
| *Arisaema tortuosum* Schott. | 2n=28 | Subramanian and Munian (1988) |
| *Amorphophallus campanulatus* Bl. ex Decne. | 2n=28 | ดวงพร (2533) |

จากการศึกษาโครโมโซมบุกวงศ์ Araceae สกุล *Amorphophallus* 14 ชนิด และบุกเทียมวงศ์ Taccaceae สกุล *Tacca* 1 ชนิด โดยนับจำนวนโครโมโซมแล้วจัดทำคาริโอไทป์ และเขียนเป็น idiogram ดังภาพที่ 20-34 และสรุปเป็นสูตรคาริโอไทป์ดังตารางที่ 6

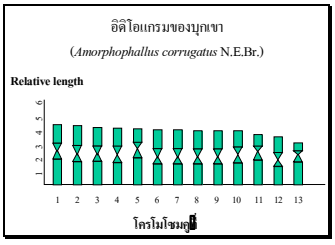
ตารางที่ 6. จำนวนโครโมโซม สูตรคาริโอไทป์ และสถานที่เก็บตัวอย่างของบุกชนิดต่าง ๆ ที่นำมาศึกษา

| ชนิดของบุก | จำนวนโครโมโซม | สูตรคาริโอไทป์ | สถานที่เก็บตัวอย่าง |
|---|---|---|---|
| 1. บุกกาญจนบุรี (*Amorphophallus blumei* Schott.) | 2n=26 | $L^{m}_{14} + L^{sm}_{2} + M^{sm}_{4} + M^{a}_{6}$ | อ. ไทรโยค จ.กาญจนบุรี |
| 2. บุกเขา (*Amorphophallus corrugatus* N.E.Br.) | 2n=26 | $L^{m}_{18} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{2} + M^{sm}_{2} + M^{a}_{2}$ | กรมวิชาการเกษตร (เชียงใหม่) |
| 3. บุกอยุธยา (*Amorphophallus bangkokensis* Gagnep) | 2n=26 | $L^{m}_{4} + L^{sm}_{4} + M^{m}_{6} + M^{sm}_{6} + M^{a}_{6}$ | กรมวิชาการเกษตร (พระนครศรีอยุธยา) |
| 4. บุกเนื้อทราย (*Amorphophallus oncophyllus* Prain.) | 2n=26 | $L^{m}_{4} + L^{sm}_{6} + M^{m}_{2} + M^{sm}_{4} + M^{a}_{10}$ | กรมวิชาการเกษตร (แม่ฮ่องสอน) |
| 5. บุกแดง (*Amorphophallus putii* Gagnep.) | 2n=26 | $L^{m}_{8} + M^{m}_{10} + M^{a}_{8}$ | ป่าหนองเต็ง อ.จักราช จ. นครราชสีมา |
| 6. อีลอก (*Amorphophallus saraburiensis* Gagnep.) | 2n=26 | $L^{m}_{8} + M^{m}_{6} + M^{sm}_{8} + M^{a}_{4}$ | กรมวิชาการเกษตร (นครราชสีมา) |
| ***7.*** บุกสายน้ำผึ้ง *(Amorphophallus variabilis Bl.)* | 2n=26 | $L^{m}_{6} + M^{m}_{10} + M^{sm}_{6} + S^{sm}_{2} + S^{a}_{2}$ | กรมวิชาการเกษตร (ประเทศเนเธอร์แลนด์) |
| 8. บุกเต่าหรือบุกขาว (*Amorphophallus sp.)* | 2n=26 | $L^{m}_{2} + L^{sm}_{4} + M^{m}_{6} + M^{sm}_{12} + M^{a}_{2}$ | กรมวิชาการเกษตร (สระบุรี) |
| 9. บุกคางคกเขียวม่วง (*Amorphophallus sp.)* | 2n=28 | $L^{m}_{12} + M^{m}_{6} + M^{sm}_{8} + M^{a}_{2}$ | กรมวิชาการเกษตร (แม่ฮ่องสอน) |
| 10. บุกคางคกเขียวขาว (*Amorphophallus campanulatus* Bl. ex Decne.) | 2n=28 | $L^{m}_{2} + L^{sm}_{4} + M^{m}_{8} + M^{sm}_{10} + M^{a}_{2} + S^{sm}_{2}$ | กรมวิชาการเกษตร (แม่ฮ่องสอน) |
| 11. บุกด่าง (*Amorphophallus kerrii* N.E.Br.) | 2n=28 | $L^{m}_{10} + L^{a}_{4} + M^{m}_{6} + M^{sm}_{2} + M^{a}_{6}$ | กรมวิชาการเกษตร (เชียงใหม่) |
| 12. บุกโคราชหรือมันกะบุก (*Amorphophallus koratensis* Gagnep.) | 2n=28 | $L^{m}_{8} + L^{sm}_{4} + M^{m}_{4} + M^{sm}_{6} + M^{a}_{4} + S^{sm}_{2}$ | กรมวิชาการเกษตร (นครราชสีมา) |
| 13. บุกแสมสาร (*Amorphophallus longituberous*) | 2n=28 | $L^{m}_{14} + M^{m}_{2} + M^{sm}_{2} + M^{a}_{10}$ | เกาะแสมสาร อ. สัตหีบ จ.ชลบุรี |
| 14. บุกงูเหลือม (*Amorphophallus sp.*) | 2n=28 | $L^{m}_{12} + L^{sm}_{2} + M^{m}_{4} + M^{sm}_{2} + M^{a}_{8}$ | นครศรีธรรมราช |
| 15. เท้ายายม่อม (*Tacca leontopelaloides* Ktze.) | 2n=28 | $L^{m}_{8} + L^{sm}_{4} + M^{m}_{2} + M^{sm}_{8} + M^{a}_{6}$ | กรมวิชาการเกษตร (นครราชสีมา) |

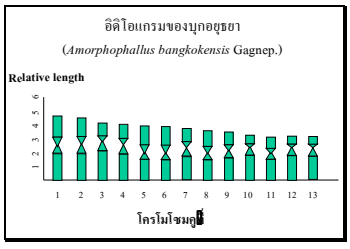

20



21



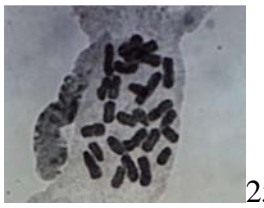
22

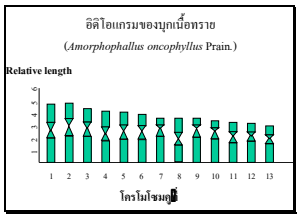


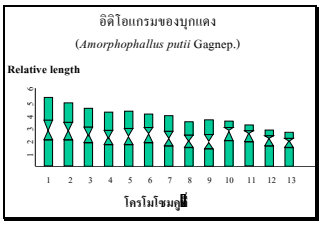

ภาพที่ 20-34. โครโมโซมระยะ metaphase และ ideogram ของบุกชนิดต่าง ๆ 20) บุกกาญจนบุรี 21) บุกเขา 22) บุกอยุธยา 23) บุกเนื้อทราย 24) บุกแดง 25) บุกอีลอก 26) บุกสายน้ำผึ้ง 27) บุกเต่า 28) บุกคางคกเขียวม่วง 29) บุกคางคกเขียวขาว 30) บุกด่าง 31) บุกโคราช 32) บุกแสมสาร 33) บุกงูเหลือม 34) บุกเท้ายายม่อม

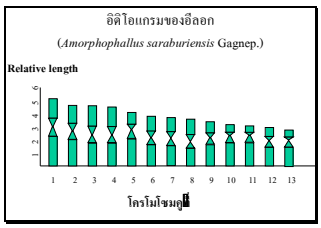
23

24


25



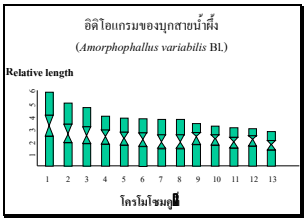



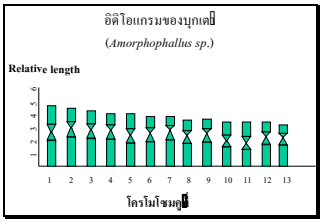



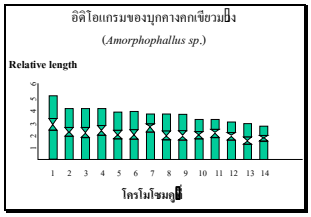
26

27

28



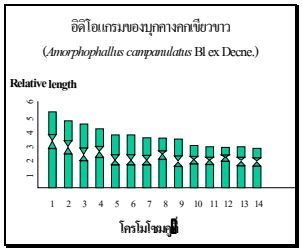



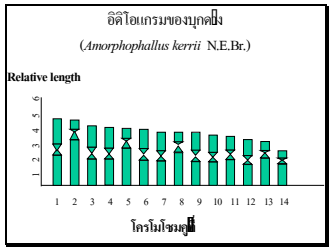



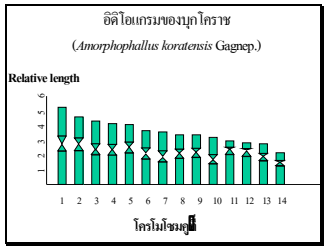
29

30

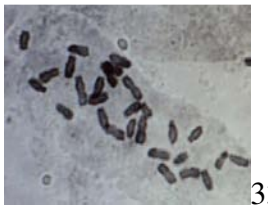
31



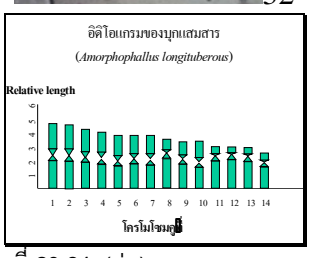



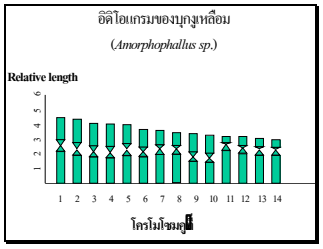



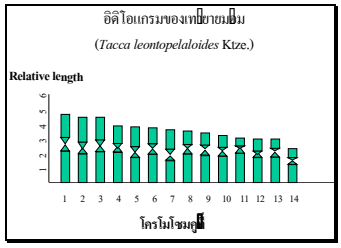
32


33

34




ภาพที่ 20-34. (ต่อ)

จำนวนโครโมโซมบุกที่ทำการศึกษาพบว่า สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 ได้แก่ บุกกาญจนบุรี บุกเขา บุกอยุธยา บุกเนื้อทราย บุกแดง อีลอก บุกสายน้ำผึ้ง และบุกเต่า โดยบุกกลุ่มนี้มีจำนวนโครโมโซมเป็น diploid และมี basic number เท่ากับ 13 และกลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=28 ได้แก่ บุกคางคกเขียวม่วง บุกคางคกเขียวขาว บุกด่าง บุกโคราชหรือมันกะบุก บุกแสมสาร บุกงูเหลือม และเท้ายายม่อม โดยมีจำนวนโครโมโซมเป็น diploid และมี basic number เท่ากับ 14 คาริโอไทป์ของบุกที่ทำการศึกษาเป็นรายงานครั้งแรกจำนวน 13 ชนิด คือ บุกกาญจนบุรี บุกเขา บุกอยุธยา บุกเนื้อทราย บุกแดง อีลอก บุกสายน้ำผึ้ง บุกเต่า บุกคางคกเขียวม่วง บุกด่าง บุกโคราชหรือมันกะบุก บุกแสมสาร และบุกงูเหลือม ส่วนจำนวนโครโมโซมบุกที่มีรายงานมาก่อน ได้แก่ บุกคางคกเขียวขาว ที่รายงานไว้โดย Patel and Narayama (1937 อ้างโดย Ramachandran, 1978), Ramachandran (1978), Subramanian and Munian (1988) และดวงพร (2533) ซึ่งตรงกับผลการศึกษาครั้งนี้ แต่ต่างจากรายงานของ Asana and Sutaria (1939 อ้างโดย Ramachandran, 1978) ที่พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=26 นอกจากนี้ Ramachandran (1978) ยังได้รายงานการศึกษาคาริโอไทป์ของบุกคางคกเขียวขาว (*Amorphophallus campanulatus* Bl. ex Decne.) ว่ามีโครโมโซมชนิด metacentric 16 แท่ง submetacentric 10 แท่ง และ subtelocentric 2 แท่ง ซึ่งตรงกับผลการศึกษาครั้งนี้ ส่วนเท้ายายม่อม (*Tacca leontopelaloides* Ktze.) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=30 และมี basic number เท่ากับ 15 แต่จากการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=28 และมี basic number เท่ากับ 14 พบว่าการเปลี่ยนแปลงจำนวน basic number เกิดได้ทั้งลดจำนวนและเพิ่มจำนวนโครโมโซม สาเหตุของการเปลี่ยนแปลงส่วนใหญ่เกิดจากการแลกเปลี่ยนส่วนของโครโมโซมไม่เท่ากัน เรียกว่า unequal reciprocal translocation ถ้าเกิด unequal reciprocal translocation หนึ่งแท่ง ทำให้จำนวนโครโมโซมลดลงหนึ่งแท่ง แต่ถ้าเกิด translocation สองครั้ง จะเป็นการเพิ่มจำนวนโครโมโซมหนึ่งแท่ง ในธรรมชาติจะพบวิวัฒนาการแบบลด basic number มากกว่าเพิ่ม basic number เช่น พืชสกุล *Crepis* ถ้าเป็น *Crepis* ชนิดโบราณมี basic number เท่ากับ 6 ได้แก่ *Crepis kashmirica* และ *Crepis mungieri* และเมื่อมีวิวัฒนาการไปเป็น *Crepis sibirica* และ *Crepis leontodontoides* พบว่า basic number เหลือเพียง 5 ส่วน *Crepis* ชนิดที่มีวิวัฒนาการไปมากและเป็นชนิดใหม่จะมี basic number เหลือเพียง 4 และ 3 ตามลำดับ นอกจากนี้ ความแปรผันภายในสกุล *Crepis* ยังพบว่ามี asymetrical karyotype เพิ่มขึ้นพร้อมกับลดจำนวนโครโมโซม จากเหตุผลดังกล่าว ถ้านำมาอธิบายกรณีของเท้ายายม่อม ที่พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=28 และมี basic number เท่ากับ 14 แต่ต่างจากที่มีรายงานว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=30 และมี basic number เท่ากับ 15 จึงน่าจะอธิบายได้ว่า เท้ายายม่อมที่ทำการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นพืชที่มีวิวัฒนาการสูงกว่าเท้ายายม่อมที่เคยมีรายงานมาก่อน เนื่องจากมีการลดทั้งจำนวนโครโมโซม และ basic number หรืออาจเป็นไปได้ว่า เท้ายายม่อมที่ศึกษาเป็นคนละชนิดกัน จึงมีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน

Stebbins (1950) เรียกคาริโอไทป์ของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดของโครโมโซมใกล้เคียงกัน และมีโครโมโซมชนิด metacentric กับ submetacentric chromosome เท่านั้นว่า symetrical karyotype แต่ถ้าเป็น asymetrical karyotype จะประกอบด้วยโครโมโซมแตกต่างกันมาก คือ มีทั้งโครโมโซมชนิด metacentric, submetacentric, acrocentric และ telocentric chromosome ดังนั้น บุกทุกชนิดที่ทำการศึกษาถึงแม้จะมีคาริโอไทป์แตกต่างกัน แต่ก็มีสิ่งที่คล้ายกัน คือ มีคาริโอไทป์เป็นแบบ asymetrical karyotype เพราะประกอบด้วยโครโมโซมชนิด metacentric, submetacentric และ acrocentric chromosome เหมือนกัน ซึ่ง asymetrical karyotype เกิดจากการเลื่อนตำแหน่งของ centromere จาก median ไปเป็น subterminal หรือ terminal หรือมีการสะสมโครโมโซมที่มีขนาดแตกต่างกันมากขึ้น จึงทำให้มีคาริโอไทป์เป็น heterogeneous karyotype การเปลี่ยนตำแหน่งของ centromere และความแตกต่างกันของขนาดโครโมโซมทั้งสองข้อนี้ไม่มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน แต่อาจพบว่ามีความสัมพันธ์กันได้ในสิ่งมีชีวิตบางชนิด ถ้าใช้ขนาดและชนิดของโครโมโซมจัดคาริโอไทป์ประกอบกับวิวัฒนาการพบว่า species ดั้งเดิมมีคาริโอไทป์แบบ homogeneous karyotype คือใน chromosome complement ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดเท่าๆ กัน ส่วน species ที่มีโครโมโซมขนาดแตกต่างกันมาก คือ มีทั้งขนาดใหญ่และเล็ก จะมีคาริโอไทป์แบบ heterogeneous karyotype ดังนั้น บุกที่ทำการศึกษาในกลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 จึงพบว่าบุกสายน้ำผึ้งน่าจะมีวิวัฒนาการสูงกว่าบุกชนิดอื่น เนื่องจาก

มีโครโมโซมทั้งขนาดใหญ่ ขนาดกลาง และขนาดเล็ก รวมทั้งมีชนิดของโครโมโซมเป็น metacentric, submetacentric และ acrocentric chromosome และบุกส่วนใหญ่จะมีคาริโอไทป์แบบ heterogeneous karyotype เพราะประกอบด้วยโครโมโซมชนิด metacentric, submetacentric และ acrocentric chromosome ส่วนบุกในกลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2n=28 พบว่าบุกโคราช และบุกคางคกเขียวขาว น่าจะมีวิวัฒนาการสูงกว่าชนิดอื่นๆ ด้วยเหตุผลเช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ มีข้อน่าสังเกตระหว่างบุกแดงกับอีลอก ที่มีขนาดของโครโมโซมเป็นขนาดใหญ่ 4 คู่ และขนาดกลาง 9 คู่ เหมือนกัน แต่ชนิดของโครโมโซมต่างกัน คือ โครโมโซมคู่ที่ 5 ของบุกแดงเป็นชนิด metacentric ส่วนอีลอกเป็นชนิด submetacentric โครโมโซมคู่ที่ 9 ของบุกแดงเป็นชนิด metacentric ส่วนอีลอกเป็นชนิด submetacentric และโครโมโซมคู่ที่ 11 กับ 12 ของบุกแดงเป็นชนิด acrocentric ส่วนอีลอกเป็น submetacentric ซึ่งบุกทั้งสองชนิดนี้เป็นบุกหัวยาวเหมือนกัน ขนาดใกล้เคียงกัน และยังสามารถเจริญในบริเวณที่ใกล้เคียงกันได้ด้วย จึงน่าจะสันนิษฐานได้ว่าบุกทั้งสองชนิดนี้อาจมีความสัมพันธ์ค่อนข้างใกล้ชิดกันมาก่อน

จากการศึกษาคาริโอไทป์ของบุก เห็นได้ว่าสามารถจัดบุกในวงศ์นี้ได้เป็นสองกลุ่มตามจำนวนโครโมโซม คือ กลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=26 และ 2n=28 และได้ข้อมูลจำนวนโครโมโซมของบุกในวงศ์ Aracea ได้สมบูรณ์เท่าที่สามารถทำได้ในสภาวะที่มีอยู่ ข้อมูลเฉพาะสูตรคาริโอไทป์จะเป็นประโยชน์ในการจัดจำแนกพันธุ์บุก หากมีการเก็บรวบรวมพันธุ์บุกอย่างจริงจังและครอบคลุมทั่วประเทศไทย จะเป็นประโยชน์ในการจัดการศึกษาและข้อมูลทางพันธุกรรมของบุกอย่างมีระบบ ในการศึกษาเพื่อนำพันธุ์บุกมาใช้ประโยชน์เป็นแนวทางที่สำคัญอย่างยิ่งในอนาคต เนื่องจากสามารถนำบุกมาเป็นพืชเศรษฐกิจได้จนถึงในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งอาจช่วยลดรายจ่ายและเพิ่มรายได้ให้แก่ประเทศ หากสามารถศึกษาจนได้พันธุ์บุกที่มีเฉพาะในประเทศไทย และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการบริโภคที่ได้มาตรฐานระดับสากล ความจำเป็นที่สุดในขณะนี้คือ การนำพันธุ์บุกที่มีข้อมูลทางพันธุกรรมระดับหนึ่ง มาศึกษาในด้านการปรับปรุงพันธุ์ การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ การศึกษาความปลอดภัยในการบริโภค และการสำรวจพันธุ์บุกที่มีในธรรมชาติ น่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สำคัญในอนาคตเนื่องจากเชื่อว่ายังมีพันธุ์บุกอีกมากมายและเป็นแหล่งพันธุ์

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 542059, 542056, 542018 และขอขอบคุณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยทรายอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่สนับสนุนตัวอย่างสัตว์เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

กันยารัตน์ ไชยสุต. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes.* ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จารุจินต์ นภีตะภัฏ. 2531. สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก. องค์การค้าคุรุสภา กรุงเทพฯ.

ดวงพร เจียมอมรรัตน์. 2533. จำนวนโครโมโซมของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ถาวร สุภาพรม, ขนิษฐา ทุมมากรณ์, ประจักษ์ จันทร์ตรี และวิสุทธิ์ ใบไม้. 2543. การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของกบอกหนามและเขียดหลังปุ่ม. บทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 26: 395.

ถาวร สุภาพรม, นงเยาว์ ฉาไธสง และนิยะดา ห่อนาค. 2534. การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของเขียดจิกและเขียดอีโม่. บทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 17: B-060.

ถาวร สุภาพรม, บุษกร อารยางกูร, แก้ว อุดมศิริชาคร และวาริณี อรุณมงคลผล. 2537. การศึกษาคาริโอไทป์และการย้อมแถบโครโมโซมแบบซีของกบจุก (*Rana pileata* Boulenger). รวมผลงานสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 8: 212-220.

ถาวร สุภาพรม และประจักษ์ จันทร์ตรี. 2542. การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของเขียดจิกปากแหลม และอึ่งกรายเอวจุด. บทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 25: 614-615.

ถาวร สุภาพรม และประภาพร กัลยาประสิทธิ์. 2533. การศึกษาโครโมโซมของอึ่งอ่างบ้านและคางคกบ้าน. บทคัดย่อการสัมมนา

วิชาการพันธุศาสตร์ 7: 107-109.

ถาวร สุภาพรม, วาริณี พละสาร และปทุมทิพย์ บุญจูง. 2537. รายงานครั้งแรกเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของอึ่งขาคำ (*Microhyla pulcha* Hollowell) และอึ่งอ่างก้นขีด (*Kaloula mediolineata* Smith). บทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 20: 326-327.

ถาวร สุภาพรม, วาริณี อรุณมงคลผล และแก้ว อุดมศิริชาคร. 2535. การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของอึ่งปากขวดและปาดบ้าน. บทคัดย่อการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 30.

ถาวร สุภาพรม, อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์ และอุไรวรรณ นิลเพ็ชร. 2535. การศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ของเขียดเหลืองและอึ่งแว่น. บทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 18: 400-401.

นงลักษณ์ นาคเกษม. 2518. การศึกษาการเจริญเติบโตและคาริโอไทป์ของกบ อึ่งอ่าง และคางคกไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมชาย เลี้ยงพรพรรณ. 2540. การอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์ป่าในประเทศไทย. ภาควิชาภูมิศาสตร์ คณะมนุษย์ศาสตร์ และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุดสนอง ผาตินาวิน และผุสตี ปริยานนท์. 2531. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 14: 434-435.

หรรษา จักรพันธุ์ ณ อยุธยา และอรนุช เกษประเสริฐ. 2532. พืชสมุนไพร-พืชหอม. เอกสารวิชาการ กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร บางเขน กรุงเทพฯ.

วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล, ผุสตี ปริยานนท์ และเพลินพิศ โชคชัยชำนาญกิจ. 2540. การศึกษาโครโมโซมเพศของกบบลูฟร็อก. การประชุมเสนอผลงานวิจัย เฉลิมฉลอง 80 ปี แห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: 735-742.

วิโรจน์ นุตพันธุ์. 2534. คางคก คางโขก คางขาก. วารสารธรรมชาติ และสัตว์เลี้ยง. 3(18): 23-27.

Beckert, W. H. and W. Doyle. 1967. Anuran Karyotype Methodology: I The Karyotype of *Bufo marinus*. *Can. S. Genet. Cytol* 9(2): 297-301.

Bogart, J. P. 1966. Chromosome Number Difference in the Amphibian Genus *Bufo* : The *Bufo regularis* Species Group. *Evolution* 22: 42-45.

Burns, G. W. and P. J. Bottino. 1989. The science of genetics. 6th ed.. Macmillan ,New York.

Chulalaksananukul, W., A. Suwannakerd and P. Pariyanonth. 1998. Karyotypic study of *Kaloula mediolineata*. (Amphibia: Microhylidae). *J. Sci. Res. Chula Univ* 23(2): 129-134.

Clerk, M. S. and W. J. Wall. 1996. Chromosomes the complex code. Chapman & Hall, London.

Cole, C. J., C. H. Lowe and J. W. Wright. 1968. Karyotype of Eight Species of Toads (Genus *Bufo*) in North America. *Copeia* 1: 96-100.

Darlington, C. D. and A. P. Wylies. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. Georg Allen and Unwin Ltd. London.

Gosden, J. R. 1994. Chromosome analysis protocols. Humana Press, Totowa.

Green, D. M. 1988. Cytogenetics of the endemic New Zealand frog, *Leiopelma hochstetteri*: extraordinary supernumerary chromosome variation and a unique sex-chromosome system. *Chromosoma* 97: 55-70.

Halnan, C. R. E. 1989. Cytogenetics of animals. Cambrian Printer, UK.

Iturra, P. and A. Veloso. 1989. Further evidence for early sex chromosome differentiation of Anuran species. *Genetica* 78: 25-31.

Kuramoto, M. 1980. Karyotypes of several frogs from Korea, Taiwan and the Philippines. *Experientia* 36: 826-828.

Mahony, M. J. 1991. Heteromorphic sex chromosomes in the Australian frog *Crinia bilingua* (Anura: Myobatrachidae). *Genome* 34: 334-337.

Mayo, S. J., J. Bogner and P. C. Boyce. 1997. The Genera of Araceae. Continental Printing Belgium, Belgium.

Melo, A. S., S. M. Recco-Pimentel and A. A. Giaretta. 1995. The karyotype of the stream dwelling frog *Megaelosia massarti* (Anura, Leptodactylidae, Hylodinae). *Cytologia* 60: 49-52.

Nardi, I., F. Andronico, S. De Lucchini and R. Batistoni. 1986. Cytogenetics of the European plethodontid salamanders of the genus *Hydromantes* (Amphibia, Urodela). *Chromosoma* 94: 377-388.

Nishioka, M., H. Hanada, I. Miura and M. Ryuzaki. 1994. Four kinds of sex chromosomes in *Rana rugosa*. *Sci.Rep.Lab.Amphibian Biol., Hiroshima Univ* 13: 1–34.

Nishioka, M., H. Okumoto and M. Ryuzaki. 1987. A comparative study on the karyotypes of pond frogs distributed in Japan, Korea, Taiwan, Europe and North America. *Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol., Hiroshima Univ* 9: 135-163.

Nishioka, M., H. Okumoto, H. Ueda and M. Ryuzaki. 1987. Karyotypes of brown frogs distributed in Japan, Korea, Europe and North America. *Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol., Hiroshima Univ* 9: 165-212.

Ota, H. and M. Matsui. 1995. Karyotype of a ranid frog, *Platymantis pelewensis*, from Belau, Micronesia, with comments on its systematic implications. *Pacific Science* 49(3): 296-300.

Ramachandran, K. 1977. Karyological Studies four South Indain Species of *Amorphophallus*. *Cytologia* 42: 645-652.

Ramachandran, K. 1978. Cytological Studies on South Indian Araceae. *Cytologia* 43: 289-303.

Schempp, W. and M. Schmid. 1981. Chromosome banding in amphibia VI. BrdU-replication patterns in Anura and demonstration of XX/XY sex chromosomes in *Rana esculenta*. *Chromosoma* 83: 697-710.

Schmid, M. 1978a. Chromosome banding in amphibia I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in Bufo and Hyla. *Chromosoma* 66: 361-388.
Schmid, M. 1978b. Chromosome banding in amphibia II. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in Ranidae, Microhylidae and Rhacophoridae. *Chromosoma* 68: 131-148.
Schmid, M. 1980. Chromosome banding in amphibia V. Highly differentiated ZW/ZZ sex chromosomes and exceptional genome size in *Pyxicephalus adspersus* (Anura, Ranidae). *Chromosoma* 80: 69-96.
Schmid, M. et al. 1990. Chromosome banding in amphibia XV. Two types of Y chromosomes and heterochromatin hypervariability in *Gastrotheca pseustes* (Anura, Hylidae). *Chromosoma* 99: 413-423.
Schmid, M. et al. 1991. Sex-determining mechanisms and sex chromosomes in amphibia. *In* D. M. Green and S. K. Sessions (eds.), Amphibian cytogenetics and evolution, pp. 393-430. Academic Press,California.
Schmid, M., T. Haaf, B. Geile and S. Sims. 1983. Chromosome banding in amphibia VIII. An unusual XY/XX-sex chromosome system in *Gastrotheca riobambae* (Anura, Hylidae). *Crhomosoma* 88: 69-82.
Schmid, M., S. Ohta, C. Steinlein and M. Guttenbach. 1993. Chromosome banding in amphibia XIX. Primitive ZW/ZZ sex chromosomes in *Buergeria buergeri* (Anura, Rhacophoridae). *Cytogenet Cell Genet* 62: 238-246.
Schmid, M., J. Olert and C. Klett. 1979. Chromosome banding in amphibia III. Sex chromosomes in *Triturus*. *Chromosoma* 71: 29-55.
Schmid, M., C. Steinlein and W. Feichtinger. 1989. Chromosome banding in amphibia XIV. The karyotype of *Centrolenella antisthenesi* (Anura, Centrolenidae). *Chromosoma* 97: 434-438.
Schmid, M., C. Steinlein and W. Feichtinger. 1992. Chromosome banding in amphibia XVII. First demonstration of multiple sex chromosomes in amphibians: *Eleutherodactylus maussi* (Anura, Leptodactylidae). *Chromosoma* 101: 284-292.
Schmid, M., C. Steintein, W. Feichtinger, C. G. de Almeida and W. E. Duellman. 1988. Chromosome banding in amphibia XIII. Sex chromosomes, heterochromatin and meiosis in marsupial frogs (Anura, Hylidae). *Chromosoma* 97: 33-42.
Seabright, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. *The Lencet* 30: 971-972.
Sharma, A. K. and S. Mukhopadhyay. 1965. Chromosome studies in *Typhonium* and *Arisaema* with a view to find out of the mode of origin and affinity of the two. *Cytologia* 30: 58-60.
Solari, A. J. 1994. Sex chromosome and sex determination in vertebrates. CRC Press, USA.
Stebbins, G. L. 1950. Variation and Evolution in Higher Plants. Addision-Wesley Publishing Company, London.
Subramanian, D. and M. Munian. 1988. Cytotaxonomical Studies in South Indian Araceae. *Cytologia* 53: 59-66.
Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expt.l Cel.l Res.* 75: 304-306.
Sumner, A. T. 1990. Chromosome banding. Unwin Hyman, London.
Taylor, E. H. 1962. The Amphibian Fauna of Thailand. *The University of Kansas Science Bulletin* 43: 265-599.

# สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชไทย

**ยอดหทัย เทพธรานนท์, ยุวพิน เลิศวีระวัฒน์, อมลยา จตุรภัทร, พนิดา พงศ์ภาณุมาพร, รัชนีพร เจนวิถีสุข, ศรีสุดา ตระกูลน่าเลื่อมใส, อัมพร หรั่งรอด, Masahiko Isaka, ประสาท กิตตะคุปต์, ปัทมา พิทยขจรวุฒิ, ชะวะนี ศิริชัยวัฒน์, รัชดา จันทร์เพ็ญ, จักรพงศ์ อินทรอุดม, สุทธิชัย อินทมาตย์ และวาระดี วงศ์สวัสดิ์**

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สวทช. 73/1 เขตราชเทวี กรุงเทพ 10400

## Abstract: Chemical Compositions and Bioactive Compounds from Thai Plants

Several biologically active compounds from microorganisms and plants have been isolated and chemically identified. The chemical structures of the isolated compounds were elucidated by spectroscopic techniques (NMR, UV, IR, MS). Biological screening for antimalarial, antitubercular, anticancer, antiviral, and antifungal activities of these natural products was conducted. A series of trimethoprim and pyrimethamine derivatives was synthesized and evaluated for their antimalarial properties.

**Key words:** bioactive compounds, antimalaria, antituberculosis, anticancer, antivirus, antifungal

## บทนำ

ในปัจจุบันยารักษาโรคเป็นสารเคมีที่มาจากการสังเคราะห์ทางเคมีและจากธรรมชาติ หรือจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี (chemical modification) ของสารที่ได้มาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural products) ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหลายชนิดมีประโยชน์ในการเป็นยารักษาโรคมาลาเรีย เช่น quinine และ artemisinin ยาปฏิชีวนะหลายชนิดได้จากเชื้อรา เช่น penicillin และ streptomycin และยาลดคลอเลสเตอรอลจากเชื้อรา เช่น pravastatin และ lovastatin ซึ่งปัจจุบันงานวิจัยของบริษัทยาในประเทศที่พัฒนาแล้ว ได้มุ่งเน้นหาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อใช้เป็นยารักษาโรคโดยตรง หรือเป็นสารต้นแบบ (chemotype) ในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเพื่อให้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีมากขึ้น ถ้าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ รวมทั้งอนุพันธุ์ที่กำลังอยู่ในระหว่าง clinical trials ได้ผ่านขั้นตอนของ clinical trials แล้ว จะมีแนวโน้มในการผลิตเป็นยาค่อนข้างสูง ตัวอย่างของสารเหล่านี้แบ่งตามการนำไปใช้ประโยชน์เป็นกลุ่มดังนี้

### กลุ่มโรคติดเชื้อ (infectious disease)

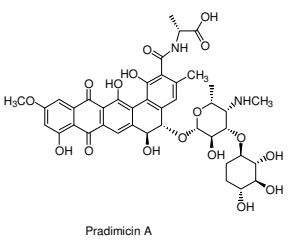
ยาปฏิชีวนะที่สำคัญหลายชนิดมาจากเชื้อรา เช่น erythromycin rifamycin และ amphotericin เป็นต้น การดื้อยาของเชื้อโรคต่อยาปฏิชีวนะนับเป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้ต้องหายาชนิดใหม่มาทดแทน หรืออาจจะทำการเปลี่ยนแปลงหมู่อนุพันธุ์ของยาเดิมเพื่อให้เชื้อโรคจำไม่ได้

สาร Pradimicin A และอนุพันธุ์ BMS-181184 เป็นสารที่กำลังทดสอบอยู่ในช่วง clinical trials (phase I) สาร Pradimicin A ผลิตโดยเชื้อรา *Actinomadura* sp. (Oki et al., 1990; Fung-Tomc et al., 1995)

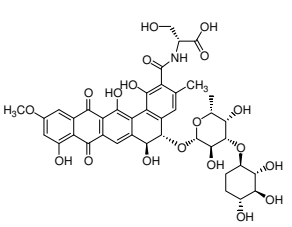
สาร GR135402 และ GM237354 เป็นสารออกฤทธิ์ชีวภาพต่อเชื้อราที่ผลิตโดยเชื้อรา *Graphium putredinis* สารทั้งสองชนิดกำลังจะเข้าทดสอบ clinical trials (Kinsman et al., 1998; Sevtap Arikan and Rex, 2000)

สาร Calanolide A ได้จากต้นไม้ *Calophyllum lanigerum* ของประเทศมาเลเซีย ที่ออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase ของเชื้อไวรัสเอดส์ (HIV-1) ซึ่งอยู่ในระหว่าง clinical trials (phase I) (Buckheit et al., 1999)

สาร SP-303 ได้จากต้นไม้ *Croton lechleri* เป็นสารกลุ่ม oligomeric proanthocyanidin ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส herpes simplex ได้ดีมาก ขณะนี้อยู่ใน clinical trials (phase II) (Sidwell et al., 1994)



Pradimicin A



BMS-181184

**โรคเกี่ยวกับระบบประสาท (neurological disease)**

สาร Huperzine A ได้จากต้นมอส *Huperzia serrata* ช่วยในการรักษาโรคความผิดปกติของการส่งกระแสประสาท ขณะนี้กำลังเข้าสู่ clinical trials (phase I) ในการรักษาโรค Alzheimer (Ye et al., 1999)

สาร Galanthamine จากต้นไม้ *Galanthus nivalis* อยู่ในระหว่าง clinical trials (phase II) ในการรักษาโรค Alzheimer (Sweeney et al., 1989; Sweeney et al., 1990)

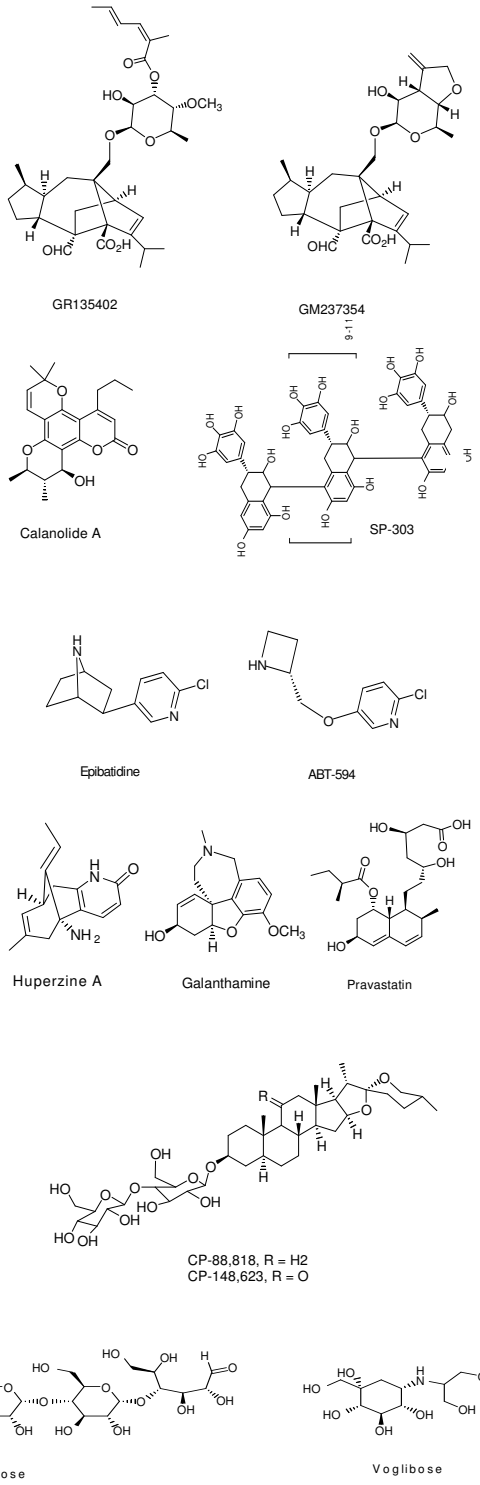
สาร Epibatidine แยกได้จากหนังกบที่มีพิษ (*Epipedobates tricolor*) สามารถระงับความเจ็บปวดได้ดีกว่ามอร์ฟีน ถึง 200 เท่า ซึ่งเป็นสารสำคัญที่นำไปสู่การค้นพบสารสังเคราะห์ทางเคมี ABT-594 ขณะนี้อยู่ใน clinical trials (phase I) การประยุกต์ใช้ระงับความเจ็บปวด (Bonhaus et al., 1995; Prince and Sine, 1998; Bannon et al., 1998)

**โรคหัวใจและโรคที่เกี่ยวกับความบกพร่องของเมตาโบลิซึ่ม**

ยาที่ใช้ลดปริมาณคลอเลสเตอรอลในเลือดที่มีวางจำหน่ายแล้ว เช่น ยากลุ่ม pravastatin ได้มาจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* (O'Keefe et al., 1995; Simons et al., 1992)

สารในกลุ่ม saponin จากต้นไม้ ส่วนใหญ่จะออกฤทธิ์ในการช่วยลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดได้ ซึ่งสารเหล่านี้เป็น chemotype ที่นำไปสู่การสังเคราะห์ยาหลายชนิด เช่น สาร CP-88, 818 และ CP-148, 623 ที่ผ่าน clinical trials (phase II) แล้วในการลดระดับของคลอเลสเตอรอลในเลือด (Harris et al., 1997a, 1997b)

ปัจจุบันมีความพยายามที่จะหาสารต่างๆ มายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ alpha-glucosidase เพื่อบรรเทาอาการโรคเบาหวาน เช่น สาร Acarbose ซึ่งแยกได้จากเชื้อ *Actinoplanes* sp. และได้วางจำหน่ายเป็นยาแล้วในประเทศเยอรมัน ญี่ปุ่น และอเมริกา และสาร Voglibose ซึ่งได้มาจากสาร valiolamine ที่แยกได้จากเชื้อรา *Streptomyces* sp. ได้ออกวางจำหน่ายแล้วในประเทศญี่ปุ่นเช่นกัน (William-Olsson, 1985; Willms and Ruge, 1999; Taira et al., 2000; Matsumoto et al., 1998)




ดังตัวอย่างที่กล่าวข้างต้น จะเห็นว่าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีศักยภาพสูงในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะทางด้านการแพทย์ประเทศไทยซึ่งอยู่ในแถบเขตร้อนชื้น ทำให้มีสิ่งมีชีวิต ทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์มาก ดังนั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งที่จะศึกษาการนำไปใช้ประโยชน์ของทรัพยากรชีวภาพเหล่านี้ โดยงานวิจัยของโครงการห้องปฏิบัติการทรัพยากรชีวภาพมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ชีวภาพของจุลินทรีย์และพืช ในการต้านเชื้อมาลาเรีย เชื้อวัณโรค เซลล์มะเร็ง เชื้อรา และลดการบวมอักเสบ (anti-inflammatory) และเพื่อปรับปรุงหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารที่แยกได้ โดยมุ่งหวังที่จะได้สารอนุพันธุ์ที่ออกฤทธิ์ชีวภาพที่ดีขึ้น

## วิธีการ

1. เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ และเก็บไว้ที่ห้องปฏิบัติการเก็บสายพันธุ์จุลินทรีย์ (BIOTEC Culture Collection) นำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย dicholomethane-methanol (50:50, v/v) และนำสารสกัดหยาบไปทดสอบฤทธิ์ชีวภาพตามกลุ่มเป้าหมายยา สำหรับพืชจะทำการสกัดด้วย dicholomethane และ methanol ซึ่งจะทำการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหยาบ ได้แก่ การต้านเชื้อมาลาเรีย วัณโรค เซลล์มะเร็ง ไวรัส และเชื้อรา

2. เลือกจุลินทรีย์ที่สารสกัดหยาบออกฤทธิ์ชีวภาพดีที่สุด มาทำการเลี้ยงเชื้อให้ได้ปริมาณมาก เพื่อนำไปสกัดและแยกสารที่ออกฤทธิ์ชีวภาพ เมื่อได้สารที่บริสุทธิ์แล้วจึงทำการพิสูจน์หาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทาง spectroscopy ต่างๆ ได้แก่ nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), ultra-violet spectroscopy (UV), infrared spectroscopy (IR) และ mass spectroscopy (MS) สำหรับพืชที่ออกฤทธิ์ชีวภาพที่ดีจะถูกคัดเลือกไปศึกษาองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

3. หาสภาวะการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อให้ผลิตสารได้มากขึ้น โดยเฉพาะสารที่ผลิตได้น้อยในสภาวะปกติ และสารนั้นออกฤทธิ์ชีวภาพได้ดีมาก ซึ่งการหาสภาวะนี้จะต้องอาศัยเทคโนโลยีการหมัก

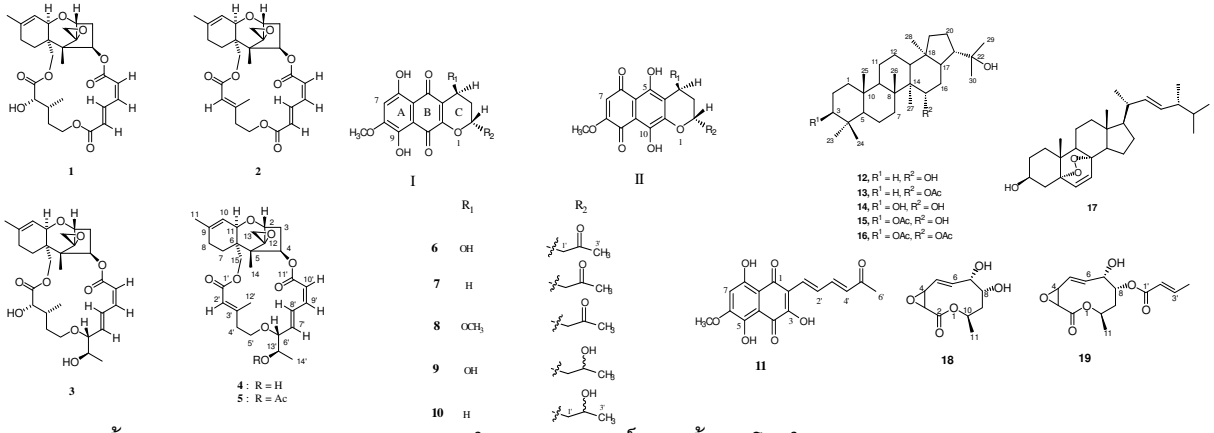
4. ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโปรตีน-ลิแกนและชีววิทยาโมเลกุล (ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ตึกโยธี) จะนำเทคนิค molecular modeling มาออกแบบจำลองปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารและเอ็นไซม์ เพื่อเป็นแนวทางให้เคมีสังเคราะห์นำไปปรับแต่งโมเลกุลและเตรียมอนุพันธุ์ pyrimethamine และ trimethoprim ให้มีความหลากหลาย เพื่อนำไปทดสอบการต้านเชื้อมาลาเรีย

## ผลการวิจัย

### สารออกฤทธิ์ชีวภาพจากจุลินทรีย์ของไทย

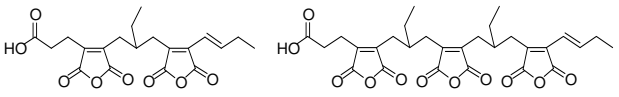
สารสกัดหยาบของเชื้อรา *Myrothecium verrucaria* ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียดีมาก จากการแยกสารให้บริสุทธิ์และพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีพบสารในกลุ่มของ macrocyclic trichothecenes (สาร 1-5) ซึ่งออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียได้ดีมาก ในระดับ ng/mL เท่ากับยา artemisinin ที่ใช้รักษาโรคมาลาเรียในปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารเหล่านี้อยู่ในระดับ ng/mL เช่นเดียวกัน ดังนั้น การนำไปประยุกต์ใช้เป็นยารักษาโรคจึงมีความเป็นไปได้น้อย (Isaka et al., 1999) เพราะอันตรายจากความเป็นพิษของสารเหล่านี้

ได้ทำการศึกษาสารต้านเชื้อมาลาเรียจากเชื้อราแมลง *Cordyceps unilateralis* ซึ่งได้พบสารที่ออกฤทธิ์ในระดับปานกลาง (ug/mL) ในการต้านเชื้อมาลาเรีย สารดังกล่าวเป็นสารพวก naphthoquinones (สาร 6-11) (Kittakoop et al., 1999) สารกลุ่มนี้เป็นสารที่มีสีแดงเข้ม ปัจจุบันห้องปฏิบัติการหมักได้ทำการศึกษาเพื่อให้เชื้อราผลิตสารสีแดงให้ได้มากที่สุด นอกจากนั้น ยังศึกษาชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) เบื้องต้นของสารกลุ่มนี้อีกด้วย



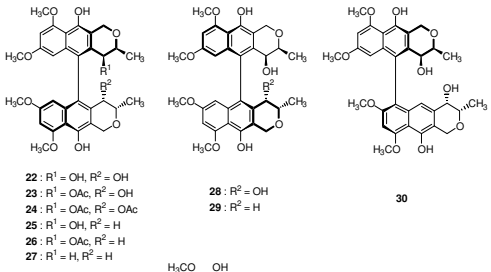

เชื้อราแมลง *Aschersonia tubulata* ให้สารออกฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรคในกลุ่ม triterpenoids (สาร 12-17) สารเหล่านี้ออกฤทธิ์ในระดับปานกลาง (ug/mL) ในการต้านเชื้อวัณโรค (Boonphong et al., 2001a)

พบสารในกลุ่ม macrolides ชื่อ Multiplolide A (สาร 18) และ Multiplolide B (สาร 19) จากเชื้อราย่อยสลายไม้ *Xylaria multiplex* สารเหล่านี้ออกฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ค่อนข้างดี (Boonphong et al., 2001b)



**20,** cordyanhydride A **21,** cordyanhydride B

เชื้อรา *Cordyceps pseudomilitaris* เป็นเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ของโลกที่ศึกษาโดยกลุ่มนักวิจัยของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในช่วงแรกพบฤทธิ์การต้านเชื้อไวรัสเอดส์ จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี พบสารที่มีโครงสร้างทางเคมีใหม่เป็นกลุ่มสารพวก anhydride (สาร 20-21) (Isaka et al., 2000a)

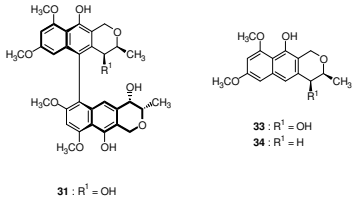


**22** : $R^1$ = OH, $R^2$ = OH
**23** : $R^1$ = OAc, $R^2$ = OH
**24** : $R^1$ = OAc, $R^2$ = OAc
**25** : $R^1$ = OH, $R^2$ = H
**26** : $R^1$ = OAc, $R^2$ = H
**27** : $R^1$ = H, $R^2$ = H

**28** : $R^2$ = OH
**29** : $R^2$ = H

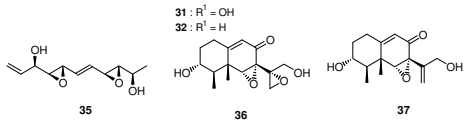
**30**

นอกจากนั้นพบว่า เชื้อรา *Cordyceps pseudomilitaris* ผลิตสารต้านเชื้อมาลาเรียอีกหลายชนิดซึ่งเป็นสารในกลุ่มของ Bioxanthracenes (สาร 22-34) และยังได้ศึกษาเทคโนโลยีการหมักเพื่อผลิตสารกลุ่มนี้อีกด้วย (Jaturapat et al., 2001; Isaka et al., 2001)



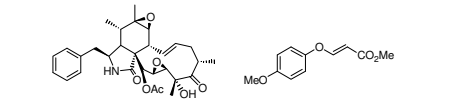
**33** : $R^1$ = OH
**34** : $R^1$ = H

**31** : $R^1$ = OH
**32** : $R^1$ = H

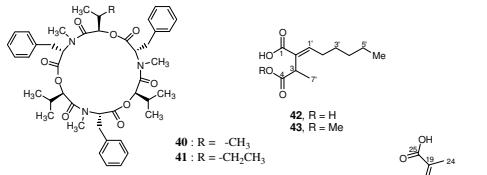


**35** **36** **37**

เชื้อราย่อยสลายไม้กลุ่ม *Xylaria* sp. เป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่มีความหลากหลายทางชีวภาพมาก โดยคัดเลือกสายพันธุ์ BCC 1067 มาทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี สารสกัดหยาบของเชื้อรานี้ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียได้ดี จากการศึกษาพบสาร 35-39 ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียได้ในระดับปานกลาง แต่สิ่งที่น่าสนใจคือสาร 36, 37 และ 39 เป็นสารที่เคยพบในพืช การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่พบสารในกลุ่มนี้ (Isaka et al., 2000b) ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ที่สารที่พบในครั้งนั้น อาจเป็นเชื้อราที่ติดกับต้นไม้



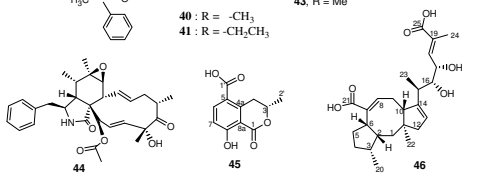
**38** **39**



**40** : R = $-CH_3$
**41** : R = $-CH_2CH_3$

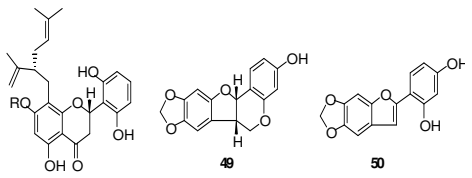
**42**, R = H
**43**, R = Me

เชื้อราแมลง *Paecilomyces tenuipes* ผลิตสารพวก cyclodepsipeptides (สาร 40 และ 41) ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียและวัณโรคได้ในระดับปานกลาง (Nilanonta et al., 2000) ปัจจุบันได้ทำการศึกษาการทำชีวสังเคราะห์สารด้วยเชื้อราชนิดนี้ วิธีการสังเคราะห์สาร



**44** **45** **46**

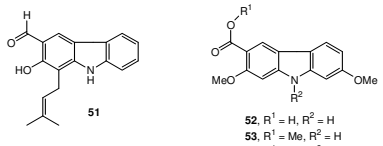
อนุพันธุ์ของสารในกลุ่มนี้คือ การเติมสารชนิดต่างๆ ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเชื้อราจะนำสารเหล่านั้นไปสังเคราะห์อนุพันธุ์ชนิดใหม่ที่เป็นอนุพันธุ์ของสาร cyclodepsipeptides



**47**, R=$CH_3$
**48**, R=H

**49** **50**

กลุ่มเชื้อราทะเลของประเทศไทย นับเป็นสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจทางด้านสารออกฤทธิ์ชีวภาพ เนื่องจากยังไม่ค่อยมีการศึกษาแพร่หลายถึงองค์ประกอบทางเคมี เชื้อราทะเล *Halorosellinia oceanica* ผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพหลายชนิด (สาร 42-46) บางชนิดมีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็ง และต้านเชื้อมาลาเรียได้ (Chinworrungsee et al., 2001)



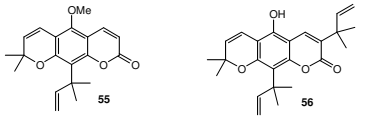
**51**



**52**, $R^1$ = H, $R^2$ = H
**53**, $R^1$ = Me, $R^2$ = H
**54**, $R^1$ = Me, $R^2$ = Me

## สารออกฤทธิ์ชีวภาพจากพืชไทย

ในช่วงแรกๆ ของการศึกษาสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากพืช ได้มีการคัดเลือกต้นไม้ที่ถูกระบุไว้ในตำรายาไทยว่าใช้รักษาไข้จับสั่น ต้นพิษนาศน์ (*Artemisia indica*) เป็นต้นไม้ที่ตำรายาโบราณกล่าวว่าใช้



**55** **56**

รักษาไข้ได้ สารสกัดหยาบของต้นไม้นี้ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย ดังนั้น จึงทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ชีวภาพ พบสารกลุ่ม flavone (สาร 47-50) ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียได้ในระดับปานกลาง (ug/mL) (Chanphen et al., 1998)

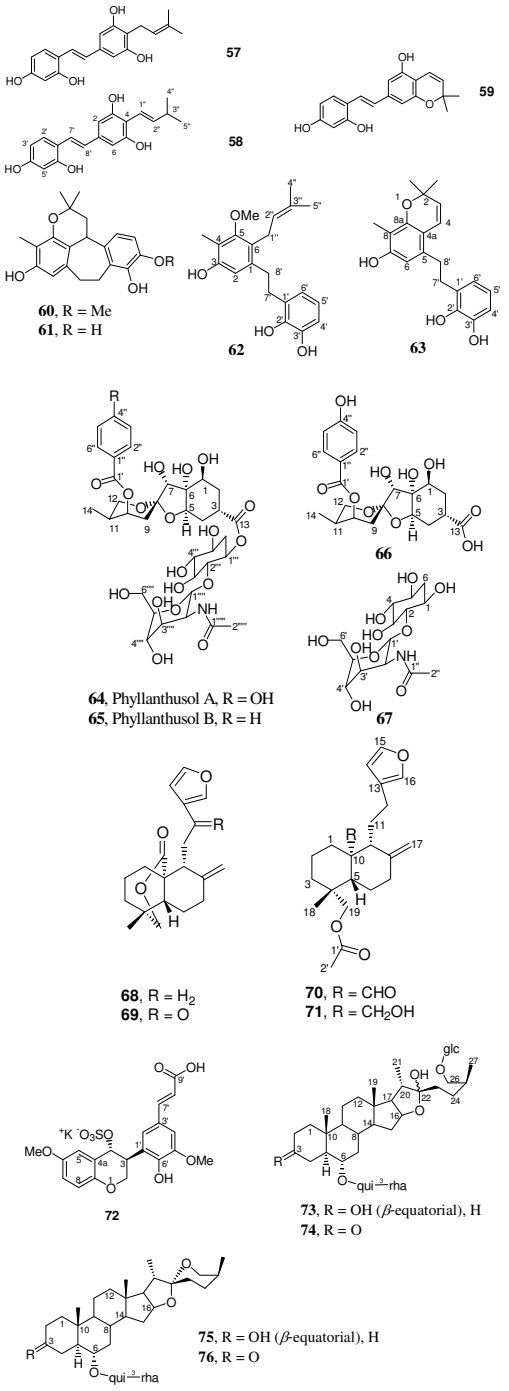
พบสารกลุ่มของ coumarins และ carbazoles จากต้นสมัด (*Clausena harmandiana*) สาร 51-56 ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียได้ในระดับปานกลางเช่นกัน (Yenjai et al., 2000)

ต้นไม้ที่พบเห็นได้ทั่วไป เช่น ต้นจำปาดะ (*Artocarpus integer*) พบว่าผลิตสารกลุ่ม stilbene (สาร 57-59) ที่มีฤทธิ์ชีวภาพต้านเชื้อมาลาเรียในระดับปานกลาง (ug/mL) (Boonlaksiri et al., 2000)

สารกลุ่ม tetracyclic compound (สาร 60 และ 63) และสารพวก bibenzyls ที่มีชื่อว่า Preracemosol A (สาร 62) และ Preracemosol B (สาร 63) แยกได้จากต้นเสี้ยวใหญ่ (*Bauhinia malabarica* Roxb) สารเหล่านี้ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียได้ในระดับปานกลาง (Kittakoop et al., 2000)

ในรากมะยม (*Phyllanthus acidus*) มีสารที่ออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งได้ในระดับปานกลาง เป็นสารใหม่ที่มีโครงสร้างทางเคมีซับซ้อน เป็นสารกลุ่ม norbisabolane glycoside มีชื่อว่า Phyllanthusol A (สาร 64) และ Phyllanthusol B (สาร 65) แต่สารที่เป็นส่วน aglycone (สาร 66) และน้ำตาล (สาร 67) ที่ได้รับหลังจาก hydrolyzed แล้ว ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็ง (Vongvanich et al., 2000)

ต้นดีปลีน้ำ (*Potamogeton malaianus*) เป็นพืชน้ำที่ขึ้นมาหลังจากที่แหล่งน้ำบรบือ จ.มหาสารคาม ถูกทำลายด้วยการทำนาเกลือ น้ำในแหล่งน้ำกลายเป็นน้ำเค็มจนพืชน้ำจืดสูญพันธุ์ไปหมด ต้นดีปลีน้ำเป็นพืชน้ำที่แทบจะเป็นชนิดเดียวที่ยังคงแพร่ในอ่างเก็บน้ำ จากการศึกษาสารออกฤทธิ์ชีวภาพของต้นดีปลีน้ำนี้ พบสารกลุ่ม labdane diterpene (สาร 68-71) ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสได้ดีมาก (Kittakoop et al., 2001)




พบสารต้านเชื้อไวรัสจากผลของมะเขือพวง (*Solanum torvum*) เป็นสารพวก isoflavonoid และ steroidal glycoside (สารที่ 72-76) สารเหล่านี้ไม่เป็นพิษ สารอนุพันธุ์ 75 และ 76 เป็นสารที่มีโครงสร้างเหมือนกับสารที่กำลังทดลองใน clinical trial เพื่อใช้เป็นยาลดคลอเลสเตอรอล ตามที่ได้กล่าวแล้วในบทนำ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากเราไม่มีระบบที่จะตรวจสอบคุณสมบัติของสาร ดังนั้น จึงไม่ทราบว่าสารนี้ช่วยลดคลอเลสเตอรอลได้หรือไม่ (Arthan et al., 2001)

## การสังเคราะห์ทางเคมีของสารต้านเชื้อมาลาเรีย

ห้องปฏิบัติการทรัพยากรชีวภาพได้ร่วมมือกับห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโปรตีน-ลิแกนและชีววิทยาโมเลกุล (ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ) พัฒนาสารต้านมาลาเรียจำพวก antifolate เพื่อนำไปใช้กับเชื้อที่มีการกลายพันธุ์ โดยใช้ Trimethoprim เป็นสารต้นแบบ ซึ่งเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ Dihydrofolate Reductase (DHFR) ที่

ดีสำหรับเชื้อแบคทีเรีย แต่ไม่ดีเท่าที่ควรสำหรับเชื้อมาลาเรีย แต่เนื่องจากสารนี้เป็นโมเลกุลที่มีความยืดหยุ่นเมื่อเทียบกับ Pyrimethamine และ Cycloguanil ซึ่งเคยเป็นยารักษาโรคมาลาเรีย แต่ในปัจจุบันเชื้อเกิดการดื้อยาเหล่านี้ขึ้น เนื่องจากเกิดการกลายพันธุ์ จึงได้สนใจนำ Trimethoprim มาเป็นต้นแบบ โดยได้ทำการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์อนุพันธุ์ต่างๆ ของ Trimethoprim ไปแล้ว 65 ตัว และได้นำอนุพันธุ์ที่เตรียมได้เหล่านี้ไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DHFR ของเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* ทั้งชนิดสายพันธุ์ดั้งเดิม (wild type) และกลายพันธุ์ (mutant) 1, 2, 3 และ 4 ตำแหน่ง คือ S108N, C59RS108N, N51IC59RS108N, C59RS108NI164L และ N51IC59RS108NI164L และนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* ทั้งชนิดสายพันธุ์ดั้งเดิม และกลายพันธุ์ 2, 3 และ 4 ตำแหน่ง คือ สายพันธุ์ K1CB1 (C59RS108N), CsL-2 (C59RS108NI164L), W2(N51IC59RS108N) และ V1/S (N51IC59RS108NI164L) ซึ่งจากผลการทดสอบพบว่า อนุพันธุ์ของ Trimethoprim ส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DHFR ของเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* ทั้งชนิดสายพันธุ์ดั้งเดิมและกลายพันธุ์ ที่ดีกว่าสารต้นแบบ Trimethoprim และมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* ในหลอดทดลอง ทั้งชนิดสายพันธุ์ดั้งเดิมและกลายพันธุ์ได้ดีกว่าสารต้นแบบเช่นกัน

จากผลการทดลอง สามารถนำผลงานไปจดสิทธิบัตร (ในประเทศไทย) ซึ่งขณะนี้กำลังอยู่ในระหว่างการดำเนินงาน นอกจากนั้น ยังสามารถนำงานวิจัยส่วนหนึ่งไปเขียนงานตีพิมพ์ (Tarnchompoo et al., 2001) และได้นำผลงานวิจัยทั้งทางด้านเคมีสังเคราะห์และสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากธรรมชาติไปเขียนเป็น review paper (Ekthawatchai et al., 1999)

ในช่วง 3-4 ปีที่ผ่านมา ห้องปฏิบัติการทรัพยากรชีวภาพได้ทำงานวิจัย ทั้งด้านเคมีสังเคราะห์และสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากพืชและจุลินทรีย์ และศึกษาสารจากธรรมชาติและอนุพันธุ์ถึง 73 ชนิด โดยนำผลงานไปตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติเป็นที่ยอมรับถึง 19 เรื่อง บางเรื่อง (Isaka et al., 2000a; Vongvanich et al., 2000) ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลก โดยได้รับการกล่าวอ้างในคอลัมน์ Hot of the Press ของวารสาร Natural Products Reports และมีผลงานที่จะจดสิทธิบัตรร่วมกับห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโปรตีน-ลิแกนและชีววิทยาโมเลกุล อีก 1 เรื่อง สามารถผลิตนักศึกษาปริญญาโทและเอกได้ 5-6 คน

## กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT 641005 และสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) สำหรับทุนการศึกษาสำหรับนักศึกษาปริญญาโทและปริญญาเอก

## เอกสารอ้างอิง

Arthan, D., J. Svasti, P. Kittakoop, D. Pittayakhachonwut, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. Antiviral isoflavonoid sulfate and steroidal glycosides from the fruits of *Solanum torvum.* Submitted for publication in Phytochemistry.

Bannon, A. W., M. W. Decker, P. Curzon, M. J. Buckley, D. J. Kim, R. J. Radek, J. K. Lynch, J. T. Wasicak, N. H. Lin, W. H. Arnold, M. W. Holladay, M. Williams and S. P. Arneric. 1998. ABT-594 [(R)-5-(2-azetidinylmethoxy)-2-chloropyridine]: a novel, orally effective antinociceptive agent acting via neuronal nicotinic acetylcholine receptors: II. *In* vivo characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 285(2): 787-94.

Bonhaus, D. W., K. R. Bley, C. A. Broka, D. J. Fontana, E. Leung, R. Lewis, A. Shieh and E. H. Wong. 1995. Characterization of the electrophysiological, biochemical and behavioral actions of epibatidine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 272(3): 1199-203.

Boonlaksiri, C., W. Oonanant, P. Kongsaeree, P. Kittakoop, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2000. An antimalarial stilbene from *Artocarpus integer*. *Phytochemistry* 54(4): 415-417.

Boonphong, S., P. Kittakoop, M. Isaka, P. Palittapongarnpim, A. Jaturapat, K. Danwisetkanjana, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2001. A New Antimycobacterial, 3$\beta$-Acetoxy-15$\alpha$,22-dihydroxyhopane, from the Insect Pathogenic Fungus *Aschersonia tubulata*. *Planta Medica* 67: 279-281.

Boonphong, S., P. Kittakoop, M. Isaka, D. Pittayakhachonwut, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2001. Multiplolides A and B, new antifungal ten-membered lactones from *Xylaria multiplex*. accepted for publication in *Journal of Natural Products*.

Buckheit, R. W. Jr, E. L. White, V. Fliakas-Boltz, J. Russell, T. L. Stup, T. L. Kinjerski, M. C. Osterling, A. Weigand and J. P. Bader. 1999. Unique anti-human immunodeficiency virus activities of the nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors calanolide A, costatolide, and dihydrocostatolide. *Antimicrob Agents Chemother* 43(8): 1827-34.

Chanphen, R., Y. Thebtaranonth, S. Wanauppathamkul and Y. Yuthavong. 1998. Antimalarial principles from *Artemisia indica. J. Nat. Prod.* 61: 1146-1147.

Chinworrungsee, M., P. Kittakoop, M. Isaka, A. Rungrod, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2001. Antimalarial halorosellinic acid from the marine fungus *Halorosellinia oceanica*. accepted for publication in *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*

Ekthawatchai, S., M. Isaka, P. Kittakoop, P. Kongsaeree, C. Sirichaiwat, M. Tanticharoen, B. Tarnchompoo, Y. Thebtaranonth and Y. Yuthavong. 1999. Synthetic and naturally occurring antimalarials. *J. Heterocyclic Chem*. 36: 1599-1606.

Fung-Tomc, J. C., B. Minassian, E. Huczko, B. Kolek, D. P. Bonner and R. E. Kessler. 1995. *In* vitro antifungal and fungicidal spectra of a new pradimicin derivative, BMS-181184. *Antimicrob Agents Chemother* 39(2): 295-300.

Harris, W.S., C. A. Dujovne, S. L. Windsor, L. L. Gerrond, F. A. Newton and R. A. Gelfand. 1997a. Inhibiting cholesterol absorption with CP-88, 818 (beta-tigogenin cellobioside; tiqueside): studies in normal and hyperlipidemic subjects. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 30(1): 55-60.

Harris, W.S., S. L. Windsor, F. A. Newton and R. A. Gelfand. 1997b. Inhibition of cholesterol absorption with CP-148, 623 lowers serum cholesterol in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 61(3): 385-9.

Isaka, M., J. Punya, Y. Lertwerawat, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 1999. Antimalarial activity of macrocyclic trichothecenes isolated from the fungus *Myrothecium verrucaria*. *J. Nat. Prod.* 62: 329-331.

Isaka, M., M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2000a. Cordyanhydrides A and B, two unique anhydrides from the insect pathogenic fungus *Cordyceps pseudomilitaris* BCC 1620. *Tetrahedron Lett*. 41: 1657-1660.

Isaka, M., A. Jaturapat, W. Kladwang, J. Punya, Y. Lertwerawat, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2000b. Antiplasmodial compounds from the wood-decayed fungus *Xylaria* sp. BCC 1067. *Planta Med*. 66: 473-475.

Isaka, M., P. Kongsaeree and Y. Thebtaranonth. 2001. Bioxanthracenes from the insect pathogenic fungus *Cordyceps pseudomilitaris* BCC 1620, II. Structure elucidation. *The Journal of Antibiotics* 54(1): 36-43.

Jaturapat, A., M. Isaka, N. L. Hywel-Jones, Y. Lertwerawat, S. Kamchonwongpaisan, K. Kirtikara, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2001. Bioxanthracenes from the insect pathogenic fungus *Cordyceps pseudomilitaris* BCC 1620, I. taxonomy, fermentation, isolation and antimalarial Activity. *The Journal of Antibiotics* 54(1): 29-35.

Kinsman, O.S., P. A. Chalk, H. C. Jackson, R. F. Middleton, A. Shuttleworth, B. A. Rudd, C. A. Jones, H. M. Noble, H. G. Wildman, M. J. Dawson, C. Stylli, P. J. Sidebottom, B. Lamont, S. Lynn, and M. V. Hayes. 1998.

Kittakoop, P., J. Punya, P. Kongsaeree, Y. Lertwerawat, A. Jintasirikul, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 1999. Bioactive naphthoquinones from *Cordyceps unilateralis*. *Phytochemistry* 52: 453-457.

Kittakoop, P., K. Kirtikara, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2000. Antimalarial preracemosols A and B, possible biogenetic precursors of racemosol from *Bauhinia malabarica* Roxb. *Phytochemistry* 55(4): 349-352.

Kittakoop, P., S. Wanasith, P. Watts, J. Kramyu, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2001. Potent antiviral potamogetonyde and potamogetonol, new furanoid labdane diterpenes from *Potamogeton malaianus*. *Journal of Natural Products* 64(3): 385-388.

Matsumoto, K., M. Yano, S. Miyake, Y. Ueki, Y. Yamaguchi, S. Akazawa and Y. Tominaga. 1998. Effects of voglibose on glycemic excursions, insulin secretion and insulin sensitivity in non-insulin-treated NIDDM patients. *Diabetes Care* 21(2): 256-60.

Nilanonta, C., M. Isaka, P. Kittakoop, P. Palittapongarnpim, S. Kamchonwongpaisan, D. Pittayakhajonwut, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2000. Antimycobacterial and antiplasmodial cyclodepsipeptides from the insect pathogenic fungus *Paecilomyces tenuipes* BCC 1614. *Planta Medica* 66: 756-758.

O'Keefe, J. H. jr., W. S. Harris, J. Nelson and S. L. Windsor. 1995. Effects of pravastatin with niacin or magnesium on lipid levels and postprandial lipemia. *Am. J. Cardiol.* 76(7): 480-4.

Oki, T., O. Tenmyo, M. Hirano, K. Tomatsu and H. Kamei. 1990. Pradimicins A, B and C: new antifungal antibiotics. II. *In* vitro and in vivo biological activities. *J. Antibiot. (Tokyo)* 43(7): 763-70.

Prince, R.J. and S. M. Sine. 1998. Epibatidine activates muscle acetylcholine receptors with unique site selectivity. *Biophys. J.* 75(4): 1817-27.

Sevtap Arikan and John H Rex. 2000. New agents for treatment of systemic fungal infections. *Emerging Drugs* 5(2): 135-160.

Sidwell, R.W., J. H. Huffman, B. J. Moscon and R. P. Warren. 1994. Influenza virus-inhibitory effects of intraperitoneally and aerosol-administered SP-303, a plant flavonoid. *Chemotherapy* 40(1): 42-50.

Simons, L. A., P. J. Nestel, P. Clifton, E. D. Janus, J. Simons and A. Parfitt. 1992. Treatment of primary hypercholesterolaemia with pravastatin: efficacy and safety over three years. *Med. J. Aust.* 157(9): 584-9.

Sweeney, J.E., P. S. Puttfarcken and J. T. Coyle. 1989. Galanthamine, an acetylcholinesterase inhibitor: a time course of the effects on performance and neurochemical parameters in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 34(1): 129-37.

Sweeney, J.E., E. S. Bachman and J. T. Coyle. 1990. Effects of different doses of galanthamine, a long-acting acetylcholinesterase inhibitor, on memory in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 102(2): 191-200.

Taira, M., N. Takasu, I. Komiya, T. Taira and H. Tanaka. 2000. Voglibose administration before the evening meal improves nocturnal hypoglycemia in insulin-dependent diabetic patients with intensive insulin therapy. *Metabolism* 49(4): 440-3.

Tarnchompoo, B., C. Intaraudom, C. Sirichaiwat, W. Phupong, W. Sirawaraporn, S. Kamchonwongpaisan, J. Vanichtanankul, Y. Thebtaranonth and Y. Yuthavong. 2001. Development of 2, 4-diaminopyrimidines as antimalarials based on inhibition of the S108N and C59R+S108N mutants of dihydrofolate reductase from pyrimethamine-resistant *Plasmodium falciparum.* manuscript in preparation for *J. Med. Chem.*

Vongvanich, N., P. Kittakoop, J. Kramyu, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2000. Phyllanthusols A and B, cytotoxic norbisabolane glycosides from *Phyllanthus acidus* Skeels. *J. Org. Chem.* 65(17): 5420-5423.

William-Olsson, T. 1985. Alpha-Glucosidase inhibition in obesity. *Acta. Med. Scand. Suppl.* 706: 1-39.

Willms, B. and D. Ruge. 1999. Comparison of acarbose and metformin in patients with type 2 diabetes mellitus insufficiently controlled with diet and sulphonylureas: a randomized, placebo-controlled study. *Diabet. Med.* 16(9): 755-61.

Ye, J.W., J. X. Cai, L. M. Wang and X. C. Tang. 1999. Improving effects of huperzine A on spatial working memory in aged monkeys and young adult monkeys with experimental cognitive impairment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 288(2): 814-9.

Yenjai, C., S. Sripontan, P. Sriprajun, P. Kittakoop, A. Jintasirikul, M. Tanticharoen and Y. Thebtaranonth. 2000. Coumarins and carbazoles with antiplasmodial activity from *Clausena harmandiana*. *Planta Medica* 66(3): 277-279.