



รายงานผลการดำเนินงาน
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2557

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

ความหลากหลายชนิดและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือ บริเวณพื้นที่หมู่เกาะเสมสาร
ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Diversity and DNA Barcode of Millipedes in Smaesarn islands under the
Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

โดย

อาจารย์ ดร. ปิโยรส ทองเกิด

หน่วยปฏิบัติการวิจัยซิสเทมาติกส์ของสัตว์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2557

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

ความหลากหลายและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือ บริเวณพื้นที่หมู่เกาะเสมสาร
ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Diversity and DNA Barcode of Millipedes in Smaesarn islands under the
Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

อ.ดร. ปิโยรส ทองเกิด

หน่วยปฏิบัติการวิจัยซิสเทมาติกส์ของสัตว์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557 ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และหน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบพระคุณ รศ. ผุสดี ปริญาณนท์ ที่ให้โอกาสเข้ามาทำวิจัยร่วมกับโครงการในพระราชดำริฯ ขอขอบพระคุณ ศ.ดร. สมศักดิ์ ปัญหา ผศ.ดร. จิรศักดิ์ สุจริต อ.ดร. ผ่องพรรณ ประสารก อ.ดร. บังอร กองอิม อ.ดร. ปิยะธิดา พิมพ์วิชัย อ.ดร. รัตน์มณี ชนะบุญ อ.ดร. ณัฐดนัย ลิขิตตระการ และสมาชิกหน่วยปฏิบัติการวิจัยซิสเทมาติกส์ของสัตว์ทุกท่าน รวมถึง Prof. Henrik Enhoff จาก Museum of Natural History, Copenhagen ประเทศเดนมาร์ก ที่ช่วยในการตรวจหาชื่อวิทยาศาสตร์ นาวาตรีอัศวิน คงประเสริฐ เรือเอกเทอดเกียรติ รัตนจารักษ์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างกิ่งกือที่เกาะเสมสาร สูดท้ายขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ให้การสนับสนุนในงานวิจัยนี้ด้วยดีตลอดมา

บทคัดย่อ

จากผลการสำรวจตัวอย่างในพื้นที่หมู่เกาะผสมสาร ทั้งหมด 5 เกาะ (เกาะผสมสาร เกาะจวง เกาะจาน เกาะคราม และเกาะอีร้า) พบกิ่งกือทั้งหมด 5 อันดับ 5 สปีชีส์ ถือว่ามีความหลากหลายในระดับอันดับของกิ่งกือค่อนข้างมาก แตกต่างกับการศึกษาโดยมากจะอธิบายว่าสิ่งมีชีวิตบนเกาะทั่วไปมักจะมีจำนวนชนิดและความหลากหลายค่อนข้างจำกัด ด้วยทรัพยากรที่มีอยู่อย่างจำกัด จากการสำรวจยังพบอีกว่าในจำนวนกิ่งกือทั้งหมดที่พบนี้เป็นชนิดพันธุ์จำเพาะถิ่น 2 สปีชีส์ และอีก 3 สปีชีส์เป็นกิ่งกือที่กระจายในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบได้ทั่วไปทั้งบริเวณแผ่นดินใหญ่และพื้นที่ที่เป็นเกาะ การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดพบว่ามีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีน COI ระหว่างสปีชีส์ของกิ่งกือที่พบบนหมู่เกาะผสมสารเฉลี่ยถึง 26.7 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างประชากรสปีชีส์เดียวกันที่อาศัยอยู่บนเกาะมีค่าเฉลี่ยที่ 5.3 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: กิ่งกือ หมู่เกาะผสมสาร ความหลากหลายทางชีวภาพ ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

Abstract

The result of Samaesarn islands expedition (5 islands: Samaesarn, Juang, Jarn, Kram and Era), we found 5 orders and 5 species of millipedes. It shows that the islands have a great number of millipede order diversities compare with the limited and isolated area as the general characters of the island flora and fauna. Among 5 species discovered, 2 species are endemic organism found only on Samaesarn islands while the others are wide spread in southeast Asian countries both on the mainland and also the islands. The DNA barcoding results from COI gene showed 26.7% genetic divergent among species from the different orders and 5.3% intraspecific genetic differentiation.

Keywords: millipedes, Samaesarn islands, biodiversity, DNA barcoding

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญเรื่อง.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญรูป.....	ฉ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	1
วัตถุประสงค์.....	4
วิธีดำเนินการศึกษา.....	5
ผลการศึกษา.....	6
สรุปและวิจารณ์ผล.....	12
เอกสารอ้างอิง.....	13
ประวัตินักวิจัยและคณะ.....	16

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงชื่อวิทยาสาสตร์ของกิ่งกือที่พบในหมู่เกาะแสมสาร.....	6

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	แสดงพื้นที่การสำรวจหมู่เกาะแสมสาร.....	7
รูปที่ 2	กิ้งกือกระบอกใหญ่ <i>Thyropygus laterolobatus</i>	8
รูปที่ 3	กิ้งกือกระบอกเล็ก <i>Benoitolus siamensis</i>	8
รูปที่ 4	กิ้งกือกระโดด <i>Nepalmatoiniulus</i> sp.....	9
รูปที่ 5	กิ้งกือแบนขนไม้ <i>Pseudodesmus</i> sp.....	9
รูปที่ 6	กิ้งกือกระสุนใหญ่ <i>Zephronia</i> sp.....	10

ความหลากหลายชนิดและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือ บริเวณพื้นที่หมู่เกาะแสมสาร ในโครงการอนุรักษ์
พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
Diversity and DNA Barcode of Millipedes in Smaesarn islands under the Initiative of
Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

อ.ดร. ปิโยรส ทองเกิด
Dr. Piyoros Tongkerd

หน่วยปฏิบัติการวิจัยซิสเทมาติกส์ของสัตว์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phyathai Road,
Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การบริหารจัดการสิ่งแวดล้อมและการพัฒนาคุณค่าความหลากหลายทางชีวภาพเป็นหัวข้อ
งานวิจัยที่มีความสำคัญลำดับต้นๆของประเทศ เนื่องจากประเทศไทยมีระบบนิเวศหลากหลาย โดยเฉพาะที่
โดดเด่นคือระบบนิเวศป่าเขตร้อนซึ่งเป็นระบบที่มีถิ่นที่อยู่อาศัยย่อยอยู่มากมาย ประกอบกับอนุกรมวิธานที่มี
เหมาะสมต่อสิ่งมีชีวิต ทำให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพสูง เป็นแหล่งผลิตทรัพยากรขนาดใหญ่ที่จะต้อง
มีการจัดการที่ดีและยั่งยืน เพื่อการใช้ประโยชน์ในระยะเวลาที่ยาวนานที่สุด สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบ
นิเวศแบบนี้ได้ถูกการคัดเลือกทางธรรมชาติให้มีความเหมาะสมและสามารถสืบเผ่าพันธุ์ได้อย่างดีตามกฎ
ของการดิ้นรนเพื่ออยู่รอดของชีวิต การที่เราจะเลือกทรัพยากรต่างๆเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ได้อย่างสมบูรณ์
ที่สุด เราจะต้องสามารถแยกความแตกต่างของทรัพยากร ศึกษาอย่างละเอียดถึงกลไกของสิ่งมีชีวิตแต่ละ
ชนิด และเข้าใจความเป็นมา วิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตนั้นๆเป็นอย่างดีเสียก่อน จึงจะสามารถบรรลุ
วัตถุประสงค์ของการบริหารจัดการและพัฒนาคุณค่าความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทยได้อย่างมี
ประสิทธิผลสูงสุด

การที่จะเข้าใจกระบวนการต่างๆเหล่านี้ การศึกษาและวิจัยพื้นฐานทางด้านอนุกรมวิธานและซิสเท
มาติกส์เป็นความจำเป็นหลักที่จะนำไปสู่การวิจัยที่ต่อยอดและนำไปใช้ประโยชน์สู่ชุมชนได้ การศึกษา
โดยทั่วไปเน้นการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอก กายวิภาคศาสตร์การสืบพันธุ์และมีข้อมูล
ทางด้านระบบนิเวศ และการกระจายทางภูมิศาสตร์ประกอบ ซึ่งเป็นวิธีที่นักอนุกรมวิธานใช้กันมานานและ
ค่อนข้างมีประสิทธิภาพในกลุ่มสิ่งมีชีวิตหลายชนิด อย่างไรก็ตามการศึกษาลักษณะต่างๆเหล่านี้ก็ทำให้เกิด
ข้อโต้แย้งมากมายเกี่ยวกับการประเมินความแตกต่างระหว่างชนิดโดยใช้ความคิดเห็นของนักวิทยาศาสตร์ผู้
ศึกษา ในปัจจุบันจึงนิยมใช้การวิเคราะห์แบบอื่นๆ เช่น การวิเคราะห์ลักษณะทางโมเลกุลดีเอ็นเอ หรือ
โปรตีน เพื่อช่วยหาคำตอบเรื่องความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ และประเมินความแตกต่างของชนิดโดยศึกษา

ความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับประชากร เพื่อตรวจสอบระยะเวลาการแยกกันทางการสืบพันธุ์ และรวบรวมผลอย่างถูกต้องเพื่อให้การจัดจำแนกสิ่งมีชีวิต มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับที่เกิดขึ้นจริงในธรรมชาติมากที่สุด การศึกษาอนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์โดยวิธีการนี้ได้ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน และนำไปสู่การคิดค้นหารหัสพันธุกรรมหรือลำดับดีเอ็นเอสั้นๆที่สามารถนำมาใช้บอกลักษณะเฉพาะของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดได้ โดยลักษณะเหมือนบาร์โค้ดของสินค้า เพื่อใช้เป็นบาร์โค้ดในการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตที่เราเรียกว่า “Barcode of life” ในปี ค.ศ. 2003 ได้มีการจัดตั้ง Consortium for the Barcoding of Life (CBOL) ขึ้น เพื่อตั้งเป็นมาตรฐานของโลกในการค้นหาดีเอ็นเอบาร์โค้ด และเป็นฐานข้อมูลกลางในการรวบรวมลำดับดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิต เป็นเวลาเกือบสิบปีที่ได้มีการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิตพบว่าลำดับดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียที่เรียกว่า ยีนไซโทโครมออกซิเดสวัน (Cytochrome C Oxidase I (COI)) เป็นบาร์โค้ดที่นิยมใช้ในสัตว์ ส่วนในพืชนั้นค่อนข้างหายากและมักพบว่าใช้ส่วนของดีเอ็นเอในนิวเคลียสหรือยีนในคลอโรพลาสต์แทน

ในประเทศไทยดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่ามีระบบนิเวศที่หลากหลายและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง จึงทำให้การศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์ในสิ่งมีชีวิตต่างๆมีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในดินซึ่งเป็นถิ่นอาศัยที่สำคัญในระบบนิเวศ เป็นแหล่งอาหารของพืชและเป็นบ้านที่พักพิงของสัตว์ต่างๆมากมาย ประกอบกับการศึกษาระบบสังคมความสัมพันธ์ทางนิเวศวิทยาของสิ่งมีชีวิตในดินนั้นยากแก่การสังเกตและต้องใช้อุปกรณ์ที่ทันสมัยเข้ามาช่วยในการศึกษา จึงทำให้ขาดความเข้าใจและมีข้อมูลพื้นฐานอยู่น้อยมากเกี่ยวกับสังคมสิ่งมีชีวิตในดิน โดยกิ่งกืออาศัยอยู่บนดินเป็นผู้ย่อยสลายซากอินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง การเคลื่อนที่ไปตามที่ต่างๆ พร้อมทั้งกับการถ่ายมูลออกมาเป็นเสมือนการหว่านปุ๋ยอินทรีย์ให้กับระบบนิเวศ เรียกว่าหน้าที่ในเชิงนิเวศได้อย่างสมบูรณ์ เกิดความสมดุลและสมบูรณ์ของระบบนิเวศ ปรับปรุงดินให้เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืช หน้าที่ในเชิงนิเวศดังกล่าวได้สร้างประโยชน์นานับประการแก่มนุษย์เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในด้านเกษตรกรรม และสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตาม กิ่งกือแต่ละชนิดหรือแต่ละกลุ่มย่อยมีถิ่นอาศัยย่อย (microhabitat) และความต้องการอาหาร (nich) ที่แตกต่างกันออกไปด้วยเช่นกัน ข้อมูลเหล่านี้เป็นประโยชน์อย่างมากต่อการนำสัตว์ที่มีประโยชน์อยู่แล้วมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้นหรือเกิดประโยชน์สูงสุด ไม่ว่าจะเป็นด้านการบำรุงหรือปรับปรุงดินในระบบนิเวศต่างๆ นับเป็นการเพิ่มมูลค่าเพิ่มให้กับกิ่งกือ ดังนั้นนอกจากการศึกษาความหลากหลายชนิดของกิ่งกือในหมู่เกาะผสมสารแล้วยังดูความสัมพันธ์ต่างๆ ทั้งทางกายภาพและชีวภาพเพื่อให้ได้ข้อมูลในเชิงลึกและสามารถเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการฟื้นฟูหรือพัฒนาระบบนิเวศต่างๆ ทั้งระบบนิเวศป่าไม้ หรือระบบนิเวศเกษตร รวมถึงสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติที่ดีต่อการเพาะเลี้ยง อีกทั้งยังสร้างฐานข้อมูล DNA เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการปรับปรุงการจัดจำแนก ทำให้การศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานมีความทันสมัยและสามารถเชื่อมโยงไปยังข้อมูลทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้อีกด้วย การศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของกิ่งกือในประเทศไทยนับจากงานวิจัยของ Henrik Enghoff ในปี ค.ศ. 2005 ที่พบว่ามียีสประมาณ 100 สปีชีส์ มีการวิจัยเพิ่มขึ้นจากสมศักดิ์ ปัญญา และปิยะธิดาพิมพ์วิชัย อย่างไรก็ตามคาดว่าน่าจะมีกิ่งกือดินในประเทศไทยประมาณ 500 สปีชีส์ ซึ่งต้องเร่งรีบทำการศึกษากันต่อไป ก่อนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ หรือควบคุมสปีชีส์ต่างถิ่น ดังนั้นการคัดพันธุ์ท้องถิ่นของประเทศไทยที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์จึงเป็นเรื่องที่จะต้องศึกษาอย่าง

เร่งด่วน ขณะนี้การจัดจำแนกชนิดของกิ้งกือนั้นสามารถใช้ลักษณะภายนอกและกายวิภาคศาสตร์เปรียบเทียบเป็นหลัก แต่เนื่องจากการเก็บตัวอย่างแต่ละพื้นที่มักพบความหลากหลายของลักษณะภายนอกของกิ้งกือเป็นจำนวนมากทำให้เริ่มมีการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดเข้ามาช่วยในการจัดจำแนก ในจำนวนนี้ส่วนมากเป็นกิ้งกือได้จากประเทศในแถบยุโรปและอเมริกา ส่วนในเอเชีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ยังไม่มีตัวอย่างที่ทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดอยู่เลย ประกอบกับชนิดพันธุ์ท้องถิ่นบ้านเรายังมีอีกจำนวนมากที่ยังรอการศึกษา การที่เรามีข้อมูลพื้นฐานทางด้านอนุกรมวิธานเหล่านี้จึงเป็นประโยชน์ต่อการคัดสรรชนิดพันธุ์ที่มีประโยชน์ เพื่อนำไปใช้ในการเกษตรที่ยั่งยืนต่อไปได้

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

สิ่งมีชีวิตในดินนั้น เป็นสังคมที่ใหญ่ที่สุดของความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศบก ประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตกว่าล้านชนิดที่อาศัยอยู่ในดิน โดยส่วนใหญ่ยังไม่ได้ถูกค้นพบและเชื่อว่ามีความสัมพันธ์ที่พัวพันกับกลุ่มสิ่งมีชีวิตเล็กๆในกลุ่มของจุลินทรีย์ (Decaëns et al., 2006) การศึกษาในระดับโมเลกุลหรือดีเอ็นเอมักจะถูกนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาอนุกรมวิธานและชีสเทมาติกส์ของกลุ่มสิ่งมีชีวิตในดิน ทั้งในระดับความสัมพันธ์ระหว่างสปีชีส์หรือระหว่างประชากรในสปีชีส์เดียวกัน (Frati et al., 2000) โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายเดียวในการระบุสปีชีส์ แสดงความจำเพาะของแต่ละสปีชีส์ และสามารถจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Herbert et al., 2003; Decaëns et al., 2008)

กิ้งกือ (millipedes) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีบทบาทสำคัญประเภทหนึ่ง ที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมในดิน กิ้งกือย่อยสลายซากขอนไม้ ใยมะพร้าว หล่นลงมาทับถมกัน โดยการย่อยสลายเกิดจากการช่วยทำงานของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และทำการย่อยโมเลกุลของสารประกอบทางเคมีในธรรมชาติให้กลายเป็นฮิวมัส มูลจะกลายเป็นปุ๋ยให้กับต้นไม้ ย่อยสลายซากใบไม้ ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารในพื้นที่ดิน มีรายงานว่าพบกิ้งกือประมาณ 10,000 ชนิดในโลก ที่มีการรายงานแล้ว แต่ก็ยังคงคาดกันว่าจะมีถึง 80,000 ชนิด ทั้งหมดมาจาก 15 อันดับ (order) ในประเทศไทยมีรายงาน 8 อันดับ 105 ชนิด รายงานโดยศาสตราจารย์ Henrik Enghoff แห่งมหาวิทยาลัยโคเปนเฮเกน ประเทศเดนมาร์ก ต่อมา มีรายงานเพิ่มอีก 1 อันดับ 2 ชนิดใหม่ จึงเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งว่าในประเทศไทยของเรานั้นมีความหลากหลายของกิ้งกือมากมายเพียงใด

การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับกลุ่มสัตว์โดยทั่วไป รวมไปถึงกิ้งกือนิยมใช้ยีนไมโทคอนเดรียตำแหน่ง cytochrome c oxidase I (COI) ขนาด 658 bps เป็นบาร์โค้ดมาตรฐาน มีการศึกษาว่าเป็นชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างสปีชีส์สูง และความแตกต่างระหว่างประชากรในสปีชีส์เดียวกันต่ำ ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีในการบอกความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ได้ (Herbert et al., 2003) กระบวนการถัดไปจะเก็บรวบรวมข้อมูลของดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นฐานข้อมูลไว้ สิ่งสำคัญที่จะต้องทำคือข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธานพื้นฐานของแต่ละตัวอย่างที่นำมาทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดโดยสามารถเชื่อมโยงไปถึงตัวอย่างอ้างอิง (voucher specimen) เพื่อใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบในกระบวนการตรวจหาชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องต่อไป ระยะเวลาที่ใช้และค่าใช้จ่ายในการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดนั้น ในปัจจุบันค่อนข้างรวดเร็วและค่าใช้จ่ายไม่สูงมากจนเกินไป ใช้เวลาเฉลี่ยประมาณ 7 ชั่วโมง ตั้งแต่กระบวนการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อบางส่วนของ

ตัวอย่าง กระบวนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่ต้องการในหลอดทดลอง จนไปถึงกระบวนการวิเคราะห์หาลำดับเบส ซึ่งวิธีการนี้สามารถใช้กับสัตว์ที่มีขนาดเล็กมากๆ หรือสามารถตรวจสอบสปีชีส์โดยไม่ต้องใช้ตัวเต็มไว (adult) เหมือนการศึกษาอนุกรมวิธานแบบเดิม (Rowley et al., 2007) อย่างไรก็ตามการศึกษาอนุกรมวิธานโดยใช้ลักษณะภายนอกและกายวิภาคศาสตร์ก็มีความสำคัญมาก รวมไปถึงข้อมูลอื่นๆ เช่น ข้อมูลทางด้านนิเวศวิทยา พฤติกรรมหรือการศึกษาชีวภูมิศาสตร์ ทำให้การจัดจำแนกมีความชัดเจนขึ้น เชื่อถือมากยิ่งขึ้น

ตั้งแต่มีการจัดตั้ง Consortium for the Barcoding of Life (CBOL) ขึ้นในปี ค.ศ. 2003 นั้น ในระยะเวลาต่อมาได้มีการสร้างฐานข้อมูลกลาง (reference library) ของดีเอ็นเอบาร์โค้ดขึ้น (Ratnasingham & Hebert, 2007) เรียกว่า The Barcode of Life Data Systems (BOLD) โดยมีทั้งข้อมูลดีเอ็นเอและข้อมูลอนุกรมวิธานพื้นฐานอื่นๆของตัวอย่างอ้างอิง โดยชื่อวิทยาศาสตร์ที่ระบุนั้นเป็นชื่อจากการศึกษาอนุกรมวิธานแบบเดิมที่มีมาก่อนข้างถูกต้องโดยผู้เชี่ยวชาญสาขานั้นๆมาช่วยตรวจหาชื่อวิทยาศาสตร์ เมื่อมีข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดประกอบก็จะช่วยให้มีความแม่นยำมากขึ้น ในกรณีที่ข้อมูลทั้งสองเป็นไปในแนวเดียวกัน ส่วนในกรณีที่การศึกษานุกรมวิธานที่ใช้แต่ลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียว โดยมีความหลากหลายในระดับประชากรค่อนข้างสูง ทำให้การจัดจำแนกเกิดความสับสน ดีเอ็นเอบาร์โค้ดจะสามารถช่วยจับกลุ่มเบื้องต้นแล้วศึกษาลักษณะอื่นๆเปรียบเทียบเพิ่มเติมก็จะได้ข้อมูลพื้นฐานที่เรียกว่า Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs) แต่อย่างไรก็ดี จะต้องพึงระลึกไว้เสมอว่าหน่วยทางอนุกรมวิธานที่เกิดจากข้อมูลจากยีนเพียงหนึ่งยีนของสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายสูงนั้น เป็นการยากที่บอกความแม่นยำในการจัดจำแนกได้ การนำไปใช้จึงต้องมีความระมัดระวังอย่างมาก (Blaxter, 2004; King et al., 2008) ฐานข้อมูลกลางของ BOLD ในขณะนี้ได้มีการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดไปแล้วในสิ่งมีชีวิตหลายกลุ่ม เช่น พวกสัตว์มีกระดูกสันหลัง ได้แก่ นก ค้างคาว สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด และกลุ่มของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ได้แก่ หนอนตัวกลม ฝีเสื้อ มด แมลงหางดีด รวมไปถึงไส้เดือนดินด้วย (Huang et al., 2007) การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตในดินจำพวกแมลงหางดีด และไส้เดือนดิน เริ่มต้นขึ้นในปี ค.ศ. 2004 โดย Hogg & Hebert ศึกษาแมลงหางดีดในเขตใกล้บริเวณขั้วโลกเหนือพบว่าชั้นส่วนของดีเอ็นเอตำแหน่ง COI นั้นเหมาะสมที่จะจำแนกระดับชนิดได้ ทั้งนี้การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือในประเทศไทย ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน งานวิจัยชิ้นนี้จะเริ่มจากกิ้งกือที่หมู่เกาะแสมสาร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางโมเลกุล และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยด้านอื่นๆต่อไป เนื่องจากกิ้งกือเป็นสัตว์ที่มีความหลากหลายมาก มีบทบาทต่อทั้งในเชิงวิทยาศาสตร์พื้นฐาน การเกษตร นิเวศวิทยาและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งไปทั้งงานวิจัยพื้นฐาน เพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารระดับชาติ และนานาชาติที่มีผลกระทบสูง และนำผลไปประยุกต์ใช้ในวงการเกษตรของชาติต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความหลากหลายชนิดของกิ้งกือบริเวณหมู่เกาะแสมสารและสร้างฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือในหมู่เกาะแสมสาร

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างกิ้งกือบริเวณหมู่เกาะแสมสาร
2. การจัดจำแนกสปีชีส์ใช้การเปรียบเทียบกับตัวอย่างต้นแบบ (type specimen) เป็นหลัก แบ่งตัวอย่างที่เก็บได้ใหม่เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยา การเจริญของตัวอ่อน และเก็บตัวอย่างส่วนหนึ่งแบบแช่แข็งที่ -80 องศา เพื่อใช้เป็นแหล่งข้อมูลทางพันธุกรรม จัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างต้นแบบไว้ในพิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติวิทยาแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อให้ให้นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกสามารถเข้าถึงและมาศึกษาได้
3. การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด
 - 3.1 สกัดสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ ของตัวอย่างกิ้งกือโดยใช้ DNA extraction kit (DNeasy Blood & Tissue Kit, QIAGEN) และตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยวิธี Gel electrophoresis
 - 3.2 นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทำ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้กับเครื่องหมายดีเอ็นเอประเภทไมโทคอนเดรีย (mitochondrial DNA) ตำแหน่ง cytochrome c oxidase I (COI) ขนาด 658 bps เพื่อเพิ่มจำนวนปริมาณของสายดีเอ็นเอเป้าหมาย (Hebert et al., 2003)
 - 3.3 ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยา (PCR product) โดย Gel electrophoresis และนำ PCR product ที่มีศักยภาพของแต่ละตัวอย่างไปทำให้บริสุทธิ์สูงขึ้นโดยใช้ PCR Purification kit (QIAquick®, QIAGEN) และทำการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายดีเอ็นเอ (DNA sequencing) โดยส่ง PCR product ให้กับบริษัท Macrogen ประเทศเกาหลี เพื่อทำการอ่านรหัสดีเอ็นเอต่อไป
 - 3.4 นำสายดีเอ็นเอที่ได้ในแต่ละตัวอย่างมาจัดเรียงเปรียบเทียบโดยใช้โปรแกรม sequence navigator (Applied Biosystems Division, Perkin Elmer, Foster City, CA, USA.) และ MEGA5 (Tamura et al., 2007)
 - 3.5 จัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือ
4. นำข้อมูลจากการวิเคราะห์ทั้งหมดมาสร้างมูลค่าเพิ่มด้วยการจัดทำเป็นฐานข้อมูลมาตรฐานของกิ้งกือของไทย โดยยึดแนวมาตรฐาน IUCN (World Conservation Union) เพื่อใช้ในการบริหารจัดการทรัพยากรกิ้งกือให้เกิดประโยชน์สูงสุดแก่ประเทศอย่างยั่งยืน

ผลการศึกษา

1. เก็บข้อมูลในพื้นที่หมู่เกาะเสม็ดสาร จังหวัดชลบุรี โดยสำรวจทั้งหมด 5 เกาะดังนี้

1. เกาะเสม็ดสาร
2. เกาะจวง
3. เกาะจาน
4. เกาะคราม
5. เกาะอีร้า

ความหลากหลายของกิ้งกือหมู่เกาะเสม็ดสาร

ประกอบด้วยกิ้งกือ 5 อันดับ รายละเอียดดังตารางที่ 1

กิ้งกือกระบอก

1. Order Spirostreptida
2. Order Spirobolida
3. Order Julida

กิ้งกือแบน

4. Order Polydesmida

กิ้งกือกระสุน

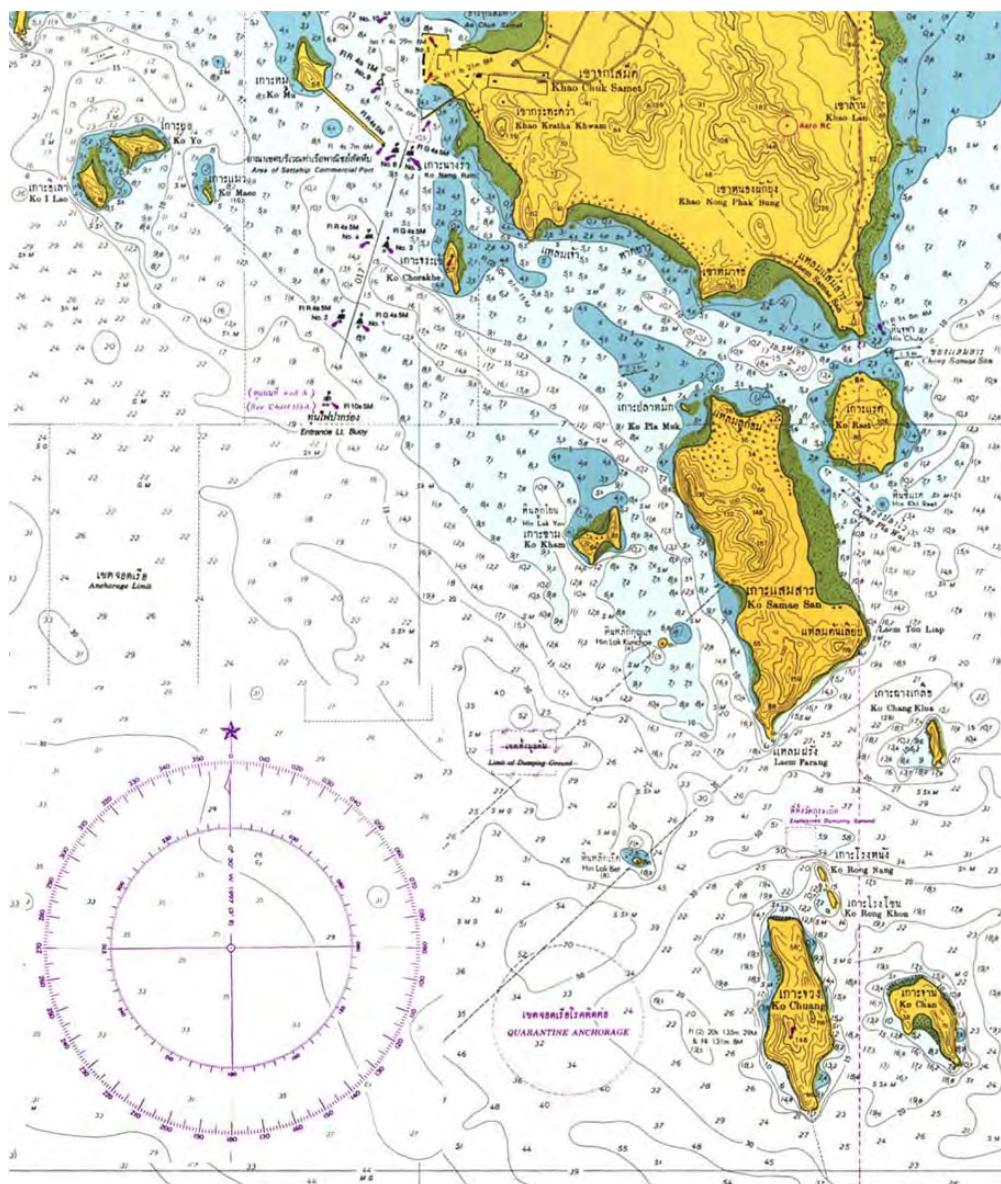
5. Order Sphaerotheriida

ตารางที่ 1 แสดงชื่อวิทยาศาสตร์ของกิ้งกือที่พบในหมู่เกาะเสม็ดสาร

ที่	อันดับ (Order)	ชื่อวิทยาศาสตร์	เกาะ				
			เกาะแปด	เกาะแก้ว	เกาะหก	เกาะสี่	เกาะสอง
1	Spirostreptida	<i>Thyropygus laterolobatus</i>	✓	-	✓	✓	-
2	Spirobolida	<i>Benoitolus siamensis</i>	✓	-	-	✓	-
3	Julida	<i>Nepalmatoiniulus</i> sp.	✓	✓	✓	✓	✓
4	Platydesmida	<i>Pseudodesmus</i> sp.	✓			✓	✓
5	Sphaerotheriida	<i>Zephronia</i> sp.					✓

2. เก็บข้อมูลในพื้นที่หมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยสำรวจทั้งหมด 5 เกาะ (รูปที่ 1) ดังนี้

1. เกาะแสมสาร
2. เกาะจวง
3. เกาะจาน
4. เกาะคราม
5. เกาะอีร้า



รูปที่ 1 แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างของเกาะต่างๆ ในหมู่เกาะแสมสาร



รูปที่ 2 กิ้งกือกระบอกใหญ่ *Thyropygus laterolobatus*



รูปที่ 3 กิ้งกือกระบอกเล็ก *Benoitolus siamensis*



รูปที่ 4 กิ้งกือกระโดด *Nepalmatoiniulus* sp.



รูปที่ 5 กิ้งกือแบนขนไม้ *Pseudodesmus* sp.



รูปที่ 6 กิ้งกือกระสุนใหญ่ *Zephronia* sp.

จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดจากหมู่เกาะหมู่เกาะแสมสาร ที่เก็บตัวอย่างไว้ทั้งหมดมาสร้างมูลค่าเพิ่มด้วยการจัดทำเป็นฐานข้อมูลมาตรฐานของกิ้งกือของไทย โดยยึดแนวมาตรฐาน IUCN (World Conservation Union) จากนั้นทำการวิเคราะห์ลำดับเบสประมาณ 200 ตัวอย่าง และได้นำข้อมูลทั้งหมดเข้าฐานข้อมูล Genbank เรียบร้อยแล้ว

ตัวอย่าง DNA Barcode ของกิ้งกือชนิด *Thyropygus laterolobatus* Pimvichai et al., 2011

ลำดับเบสของยีนไมโทคอนเดรีย Cytochrome Oxidase I และรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดใน Genbank
COI (GenBank accession KC519512)

AACTATATATTTAATTTTCGGTGCTTGAGCAGCCTTGGTTGGCTCTTCATTA
 AGCATtCTAATCCGACTTGAGCTTAGCCAACCAGGAAGCTTAATTGGAGATG
 ACCAAATTTATAATGTAATCGTAACAGCACATGCATTTGTAATAATTTTCTT
 TATAGTAATACCCATTATAATTGGGGGATTTGGAAACTGACTAGTCCCTTTA
 ATATTAGGAGCCCCGACATAGCCTTTCCTCGAATAAATAATATAAGATTTT
 GATTATTACCCCTGCATTATTTTACTTCTAGCATCCTCCGCTGTAGAAAA
 AGGAGCCGGAACAGGCTGAACAGTTTACCCTCCATTAGCTGCAACAATAGCT
 CATAACAGGCCCTCAGTAGATATAGCTATTTTTTTCCTTACACCTAGCAGGTG
 CTTCTTCAATCCTAGGAGCTATTAATTTTATTACCACTATTATTAATATACG
 AACTGCGGGTATATTATTTGAGCAAATACCTCTCTTTGTTTGGAGCAGTAAAA
 ATTACTGCAATCCTCCTTTTATTGTCTCTTTCCTGTATTAGCAGGAGCAATTA
 CAATACTCTTAACTGACCGAAATTTTAATACCTCTTTCTTTGATCCCGCTGG
 AGGAGGAGACCCTATTCTCTACCAACACTTATTC

ลำดับเบสของยีนไมโทคอนเดรีย 16SRNA และรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดใน Genbank
16S rRNA (GenBank accession KC519587)

GGTTTTTTGAATTTAAATAAAAAATCAGGCCTGCCCACTGATAAAGGGCTGC
 AGTATTTTGACTGTACAAAGGTAGCATAATCATTAGTCTTCTAATTAAGGAC
 TGGTATGAAAGGTTAGACGGGGATAATCTGTCTCAATTATAAAAAATAAATTT
 TATTTTAAAGAAAAGAGCTTAAATTTAGCAAAGGGACGAGAAGACCCTATT
 AAATTTGATACAATAAATTTATTTTAAATTTGTATAAAAAGAGTAATTATATAT
 TAGTTTTACTGGGGCGGTGTGTTTATAACTTTATTATATTTTAAATTTATTAG
 GTAGCGGACTTTTGATCCGAaAGGATCGATATTAGATAAAAATTACTATAGGG
 ATAACAGCGTAATATTTTTTGGAGAGTTCTTATTGACAAGAATGTTTGGCACC
 TCGATGTTGGATTAAGAAGTCTTATTGGTGCAGTAGTTTTTGAAGAAGGTCT
 GTTCGACCTTTAAATTCTT

จากการวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดพบว่ามีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีน COI ระหว่างชนิดของกิ้งกือที่พบบนหมู่เกาะแสมสารเฉลี่ยถึง 26.7 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างประชากรสปิชีส์เดียวกันที่อาศัยอยู่คนละเกาะมีค่าเฉลี่ยที่ 5.3 เปอร์เซ็นต์

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการสำรวจความหลากหลายของกิ้งกือในหมู่เกาะแสมสารทั้ง 5 เกาะ พบว่ามีความหลากหลายค่อนข้างสูง และพบชนิดพันธุ์จำเพาะถิ่น 2 ชนิดคือ กิ้งกือแบนขนไม้ *Pseudodesmus* sp. และกิ้งกือกระสุนใหญ่ *Zephronia* sp. และอีก 3 ชนิด คือ กิ้งกือกระบอกใหญ่ *Thyropygus laterolobatus* กิ้งกือกระบอกเล็ก *Benoitolus siamensis* และ กิ้งกือกระโดด *Nepalmatoiniulus* sp. ที่มีการบันทึกว่าเป็นชนิดที่มีการกระจายตัวกว้างพบได้ทั้งบนแผ่นดินใหญ่ และบนเกาะ และพบได้ทั่วไปในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จากการศึกษากิ้งกือที่เกาะแสมสารในครั้งนี้ ทำให้พบว่าพื้นที่และทรัพยากรที่ได้รับการปกป้องโดยกองทัพเรือ ทำให้ความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตยังคงอยู่ และสามารถดำรงเผ่าพันธุ์ต่อไปได้ เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ที่เป็นเกาะอื่นๆ ในประเทศไทยที่ได้รับการรบกวนจากการท่องเที่ยวค่อนข้างมาก จะพบว่ามี ความหลากหลายของอันดับของกิ้งกือน้อยกว่า เช่นที่เกาะตะรุเตา เกาะสมุย เป็นต้น

จากการวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดพบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีน COI ระหว่างสปีชีส์ของกิ้งกือที่พบบนหมู่เกาะแสมสารเฉลี่ยถึง 26.7 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างประชากรสปีชีส์เดียวกันที่อาศัยอยู่คนละเกาะมีค่าเฉลี่ยที่ 5.3 เปอร์เซ็นต์ การพบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างสปีชีส์ที่มีค่าสูงนั้นเนื่องจากแต่ละสปีชีส์มาจากคนละอันดับกัน ทำให้ความแตกต่างที่ได้เป็นความแตกต่างระหว่างอันดับของกิ้งกือ ค่าของความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับสปีชีส์ในสกุลเดียวกันของกลุ่มกิ้งกือทั่วไปที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ในยีน COI นั้น จะมีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมประมาณ 13-16 เปอร์เซ็นต์ สำหรับค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรสปีชีส์เดียวกันที่อาศัยอยู่คนละเกาะมีค่าเฉลี่ยปานกลาง ที่สามารถทำให้คาดเดาได้ว่าวิวัฒนาการกำลังอยู่ในกระบวนการการเกิดสปีชีส์ใหม่ระหว่างประชากรที่อาศัยอยู่บนเกาะที่ต่างกัน อาจต้องใช้เวลามากกว่านี้ในการเกิดสปีชีส์ใหม่ และเราสามารถติดตามตรวจสอบได้จากการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดต่อไป

ทั้งนี้การศึกษาความหลากหลายและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือนี้ สามารถทำให้เรารู้ถึงวิวัฒนาการที่กำลังเกิดขึ้นในกลุ่มประชากรต่างๆ ทั้งที่อาศัยอยู่บนเกาะและบนแผ่นดินใหญ่ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ได้ระหว่างสปีชีส์ยังสามารถทำให้เราทราบถึงแนวทางการอนุรักษ์พื้นที่และทรัพยากรสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะประชากรที่อาศัยอยู่บนเกาะและมีแนวโน้มการสูญพันธุ์สูงอีกด้วย ดังนั้นการวิจัยในปัจจุบันจึงควรมุ่งไปยังงานวิจัยพื้นฐาน เพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารระดับชาติ และนานาชาติที่มีผลกระทบสูง และนำผลไปประยุกต์ใช้ในวงการเกษตรของชาติต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Attems, C. 1938. Die von Dr. C. Dawydoff in Französisch Indochina gesammelten Myriopoden. Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle N. S. 6: 187-321.
- Boyer, S. H., Fainer, D. C. and Watson, E. J. 1963. Lactate dehydrogenase variation from human blood: Evidence for molecular subunit. Science. 141: 642-643.
- Campbell, D.C., Johnson, P.D. and Williams, J.D. 2008. Identification of 'extinct' freshwater mussel species using DNA barcoding. Molecular Ecology Resources, 8: 711-724.
- Dasmahapatra, K.K. and Mallet, J. 2006. DNA barcodes: recent successes and future prospects. Heredity, 97: 254-255.
- Davison, A., Blackie, L. E. Rose and Scothern, P. Gary. 2009. DNA barcoding of stylommatophoran land snails: a test of existing sequences. Molecular Ecology Resources, 9: 1092-1101.
- Demange, J. M. 1986. Harpagophoridae de Thailand et de Malaisie (Myriapoda, Diplopoda, Spirostreptida). Bulletin du Muséum National d' Histoire Naturelle, Paris, 4e sér., 8 sect. A: 851-865.
- Demange, J. M. 1989. Sur quelques Harpagophoridae du SudEst asiatique et de l' Inde (Myriapoda, Diplopoda, Spirostreptoidea). Bulletin du Meséum National d' Histoire Naturelle, Paris. 4e sér., 11 sect. A: 773-781.
- Ebach, M.C. and Holdrege, C. 2005. DNA barcoding is no substitute for taxonomy. Nature, 434: 697-697.
- Enghoff, H. 2005. The millipedes of Thailand (Diplopoda). Steenstrupia. 29(1): 87-103
- Enghoff, H., Sutcharit, C. and Panha, S. 2007. The shocking pink dragon millipede, *Desmoxytes purpurosea*, a colourful new species from Thailand (Diplopoda: Polydesmida: Paradoxosomatidae). Zootaxa. 1563: 31-36.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., and Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3: 294-299.
- Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM. 2004b. Identification of birds through DNA barcodes. Public Library of Science, Biology, 2: 1657.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and DeWaard, J.R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society Series B: Biological Sciences, 270: 313-321.

- Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen D.H., and Hallwachs, W. 2004a. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 101: 14812–14817.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S. and deWaard J.R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society Series B: Biological Sciences*. 270: S96–S99.
- Hoffman, R. L. 1975. Studies on spirostreptid millipedes. XI. A review of some Indonesian genera of the family Harpagophoridae. *J. nat. Hist.* 9: 121-152.
- Hoffman, R. L. 1982. Two interesting new millipedes of the genus *Thyropygus* from the mainland of southeast Asia (Spirostreptida: Harpagophoridae). *Entomol. Mitt. Zool. Mus. Hamburg Bd.* 7: 246-251.
- Hopkin, S. P. and Read, H. J. 1992. *The Biology of Millipedes*. Oxford Science Publications. Oxford University Press. Oxford: 233 pp.
- Huang, J., Xu, Q., Sun, Z.J., Tang, G.L., and Su, Z.Y. 2007. Identifying earthworms through DNA barcodes. *Pedobiologia*. 51: 301-309.
- Kelly, R.P., Sarkar, I.N., Eernisse, D.J. and Desalle, R. 2007. DNA barcoding using chitons (genus *Mopalia*). *Molecular Ecology Notes*. 7: 177–183.
- Kraus, O. 1996. *Phylogenie, Chorologie und Systematik der Odontopygoideen (Diplopoda, Spirostreptomorpha)*. Frankfurt a. M., 15.9.
- Likhitrakarn, N., Golovatch, S. and Panha, S. 2010. The millipede genus *Orthomorpha* Bollman, 1893 in Thailand. 1. Revision of the sericata-group, with descriptions of four new species (Diplopoda, Polydesmida, Paradoxosomatidae). *Zootaxa*. 2361: 23-45.
- Meyer, C.P. and Paulay, G. 2005. DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *Public Library of Science, Biology*. 3: 2229–2238.
- Panha, S., Enghoff, H. and James, S. 2007. *Earthworm and Millipede*. Publication of BRT Program. Jirawat Express Ltd., Bangkok, 72 pages. (in Thai).
- Pimvichai, P., Enghoff, H. and Panha, S. 2009a. A revision of the *Thyropygus allevatus* group. Part 1: the *T. opinatus* subgroup (Diplopoda, Spirostreptida, Harpagophoridae). *Zootaxa*. 2016: 17-50.
- Pimvichai, P., Enghoff, H. and Panha, S. 2009b. A revision of the *Thyropygus allevatus* group. Part 2: the *T. bifurcus* subgroup (Diplopoda, Spirostreptida, Harpagophoridae). *Zootaxa*. 2165: 1-15.

- Pimvichai, P., Enghoff, H. and Panha, S. 2010. The Rhyncoproctinae, a south-east Asiatic subfamily of giant millipedes: cladistic analysis, classification, four new genera and a deviating new species from north-west Thailand (Diplopoda: Spirostreptida: Harpagophoridae). *Invertebrate Systematics*. 24: 51-80.
- Pocock, R. I. 1889. Report on the Myriopoda of the Mergui Archipelago, collected for the Trustees of the Indian Museum, Calcutta, by Dr. John Anderson, F.R.S., Superintendent of the museum. *Journal of the Linnean Society*. 21: 287-302.
- Pocock, R. I. 1892. Supplementary notes on the Arachnida and Myriopoda of the Mergui Archipelago: with description of some new species from Siam and Malaysia. *Journal of the Linnean Society*. 24: 316-326.
- Savolainen, V., Cowan, R.S., Vogler, A.P., Roderick, G.K. and Lane, R. 2005. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 360: 1805.
- Schindel, D.E. and Miller, S.E. 2005. DNA barcoding a useful tool for taxonomists. *Nature*. 435: 17-17.
- Sierwald, P. and Bond, J. E. 2007. Current status of the myriapod class Diplopoda (millipedes): taxonomic diversity and Phylogeny. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 401-420.
- Smith, V.S. 2005. DNA barcoding: perspectives from a 'Partnerships for Enhancing Expertise in Taxonomy' (PEET) debate. *Systematic Biology*. 54: 841-844.
- Tautz, D., Arctander, P., Minelli, A., Thomas, R.H. and Vogler, A.P. 2003. A plea for DNA taxonomy. *Trends in Ecology & Evolution*. 18: 70-74.
- Thompson, J. D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. 1997. The CLUSTAL_X window interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*. 25: 4876-4882.
- Verhoeff, K. W. 1938. Über Chorizognathen aus dem Zoologischen Museum in München. *Zoologischer Anzeiger*. 124: 303-320.
- Will, K.W. and Rubinoff, D. 2004. Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. *Cladistics*. 20: 47-55.

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ไทย) ดร. ปิโยรส ทองเกิด
(อังกฤษ) Dr. Piyoros Tongkerd
2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3191000019202
3. ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์
4. หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
สถานที่ติดต่อ หน่วยปฏิบัติการวิจัยซิสเทมาติกส์ของสัตว์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย
โทรศัพท์ 02-218-5273 โทรศัพท์มือถือ 089-149-7791
โทรสาร 02-218-5273 E-mail: piyorse@hotmail.com; piyoros_tongkerd@yahoo.com
5. ประวัติการศึกษา
2538-2541 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2541-2545 วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
อนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังกลุ่ม Molluscs
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย
2545 The Thai-French Project (TRF-CNRS, 2002-2005)
2549 Thai-French Project (TRF-CNRS, 2006-2009)
2549 Darwin Initiative Project (2006-2009)
2549 Research Award from National Research Council of Thailand (NRCT)
2550 CHE-RG Research Grant on Limestone Biodiversity
2551 Research Scholar, Thailand Research Fund (TRF)
2553 National Research University (Office of the Higher Education Commission)
2556 TRF Senior Scholar (Thailand Research Fund)
2557 TRF Senior Scholar (Thailand Research Fund)

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

1. Sutcharit, C., **Tongkerd**, P. and Panha, S. 2014. The land snail genus *Pterocyclos* Benson, 1832 (Cenogastropoda: Cyclophoridae) from Thailand and Peninsula Malaysia, with descriptions of two new species. *Raffles Bulletin of Zoology*, 62: 330-338.
2. Nantarat, N., Sutcharit, C., **Tongkerd**, P., Ablett, J., Naggs, F. and Panha, S. 2014. An annotated catalogue of the type specimens of the land snail genus *Cyclophorus* Monfort, 1810 (Gastropoda: Caenogastropoda) in the Natural History Museum, London. *ZooKeys*, 41: 1-56.
3. **Tongkerd**, P., Sutcharit, C. and Panha, S. 2013. Two New Species of Micro Land Snails from Two Islands in the Andaman Sea (Prosobranchia: Diplommatinidae; Pulmonata: Pupillidae). *Tropical Natural History*. 13(2): 65-76.
4. Nantarat, N., **Tongkerd**, P., Sutcharit, C., Naggs, F., Wade, C.M. and Panha, S. 2013. Phylogenetic relationships of the operculate land snail genus *Cyclophorus* Montfort, 1810 in Thailand. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2013.09.013>.
5. Sutcharit, C., **Tongkerd**, P, Panha, S. 2013. First records on chiral dimorphic population of *Amphidromus inversus annamiticus* (Crosse and Fischer, 1863) from Thailand. *Tropical Natural History*. 13: 53-57.
6. Bangon Kongim, Chirasak Sutcharit, Piyoros **Tongkerd** and Somsak Panha. 2013. Karyotypes of the snorgel snail genera *Pterocyclos* and *Rhiostoma* (Prosobranchia: Cyclophoridae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, 61(1): 13-20.
7. Chanabun, R., Sutcharit, C., **Tongkerd**, P. and Panha, S. 2013. The semi-aquatic freshwater earthworms of the genus *Glyphidrilus* Horst, 1889 from Thailand (Oligochaeta, Almididae) with re-descriptions of several species. *ZooKeys*, 265: 1-76.
8. Chanabun, R., Bantaowong, U., Sutcharit, C., **Tongkerd**, P., James, S. and Panha, S. 2012. A new species of semi-aquatic freshwater earthworm of the genus *Glyphidrilus* Horst, 1889 from the Mekong River (Oligochaeta: Almididae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, 60(2): 265-277.
9. Chanabun, R., Sutcharit, C., **Tongkerd**, P., Shau-Hwai, A. T. and Panha, S. 2012. Three new species of the semi-aquatic freshwater earthworm of the genus Horst, 1889 from Malaysia (Clitellata: Oligochaeta: Almididae). *Zootaxa*, 3458: 120-132.

10. Sutcharit, C., **Tongkerd, P.**, Tan Shau-Hwai, A. and Panha, S. 2012. Taxonomic revision of *Dyakia janus* from Peninsular Malaysia (Pulmonata: Dyakiidae), with notes on others sinistrally coiled helicarionids. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 60(2): 279-287.
11. Prasankok, P., **Tongkerd, P.**, Sutcharit, C. and Panha, S. 2011. Genetic divergence in the snorkel snail, *Rhiostoma housei*, a species complex in Thailand (Caenogastropoda: Cyclophoridae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 39: 834-840. [**Impact Factor 2010: 1.110**]
12. Bantaowong, U., Chanabun, R., **Tongkerd, P.**, Sutcharit, C., James, S. W. and Panha, S. 2011. New earthworm species of the genus *Amyntas* Kinberg, 1867 from Thailand (Clitellata, Oligochaeta, Megascolecidae). *ZooKeys*, 90: 35-62. [**Impact Factor 2010: 0.514**]
13. Bantaowong, U., Chanabun, R., **Tongkerd, P.**, Sutcharit, C., James, S. W. and Panha, S. 2011. A new species of the terrestrial earthworm of the genus *Metaphire* Sim & Easton, 1972 from Thailand with redescription of some species. *Tropical Natural History*, 11(1): 55-69. [**Impact Factor: -**]
14. Kongim, B., Sutcharit, C., **Tongkerd, P.**, Tan, A.S.H., Quynh, N.X., Naggs, F. and Panha, S. 2010. Karyotype variation in the genus *Pollicaria* (Prosobranchia: Pupinidae). *Zoological Studies*, 49(1): 125-131. [**Impact Factor 2010: 1.046**]
15. Norhanis, M.R., Tan, S.H., Zufigar, Y., Panmha, S., Sutcharit, C. and **Tongkerd, P.** 2010. An annotated checklist of micro-landsnails from limestone areas in Langakawi Islands, Kedah, Peninsular Malaysia. *Malayan Nature Journal*. 62: 307-313. [**Impact Factor: -**]
16. Kongim, B., Sutcharit, C., **Tongkerd, P.** and Panha, S. 2009. Karyotype differentiation within the elephant snail, *Pollicaria mouhoti* (Pfeiffer, 1862) (Caenogastropoda: Pupinidae). *The Natural History Journal of Chulalongkorn University*, 9(2): 201-208. [**Impact Factor: -**]
17. Prasankok, P., Sutcharit, C., **Tongkerd, P.** and Panha, S. 2009. Biochemical assessment of the taxonomic diversity of the operculate land snail, *Cyclophorus fulguratus* (Gastropoda: Cyclophoridae), from Thailand. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 900-906. [**Impact Factor 2010: 1.110**]