

ศึกษาโครโมโซมและเขตการกระจายของหอยเชอรี่ *Pomacea* spp.
ในประเทศไทย

Chromosomal Studies and the Distribution of Golden Apple Snail;
Pomacea sp. in Thailand

ดาราทพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ญัฐธิญา กาญจนนิธิพัฒน์
ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการสำรวจการระบาด/เก็บตัวอย่างและบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์พื้นที่เก็บตัวอย่างตามแผนการสำรวจ พบว่าหอยเชอรี่สกุล *Pomacea* มีเขตการกระจายอยู่ทุกภาคของประเทศไทย เมื่อศึกษา feeding behavior พบว่าหอยเชอรี่สามารถกินได้ตลอดเวลา คิดเป็นน้ำหนักอาหารที่กินโดยเฉลี่ย 49.66 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว/วัน (n=30) หอยเชอรี่จะวางไข่สีชมพูไว้ตามต้นพืชหรือวัสดุที่อยู่เหนือน้ำ ขนาดของกลุ่มไข่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.11 - 22.20 มม. ยาว 15.32 - 55.92 มม. เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ 1.65 - 2.49 มม. ไข่หอยเชอรี่มีจำนวน 286 - 4,303 ฟอง เมื่อนำค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่มาคำนวณค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA พบว่ามีอย่างน้อย 1 ตัวอย่างที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, 99% และ 99.9% และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Tukey's HSD และ Scheffe ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.9% พบว่ามีการแบ่งกลุ่มออกเป็นอย่างน้อย 2 กลุ่ม

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเชอรี่ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เทคนิค morphometrics ซึ่งขณะนี้กำลังศึกษาจากตัวอย่างหอยบางส่วนที่เก็บจากพื้นที่ภาคเหนือ 60 ตัวอย่าง ภาคใต้ 125 ตัวอย่าง และภาคตะวันตก 60 ตัวอย่าง โดยวัดค่า shell length, shell width, last whorl height, aperture length และ aperture width วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ ANOVA จากโปรแกรม SPSS จากนั้นนำข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยที่วิเคราะห์แล้วมาเปรียบเทียบเพื่อ คัดเลือกตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันไปศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ในปีต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-33-56

คำนำ

งานทางด้านอนุกรมวิธานของสัตว์ในกลุ่มหอยทาก เดิมจะใช้ข้อมูลเกี่ยวกับสัณฐานวิทยาของเปลือกในการจำแนกเป็นหลัก เช่น รูปทรงเปลือก ทิศของการขดวน ขนาดเปลือก สีสัน และลวดลาย เป็นต้น ซึ่งในบางครั้งทำให้เกิดปัญหาในการจำแนก เนื่องจากเปลือกของหอยทากแต่ละชนิดมีความผันแปรมาก ทำให้การจำแนกชนิดโดยใช้สัณฐานวิทยาของเปลือกเพียงอย่างเดียวมีความซับซ้อน สับสน และขาดความชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งหอยทากที่มีรูปทรงและขนาดของเปลือกใกล้เคียงกัน เช่น หอยสาลิกา (*Sarika* sp.) และหอย *Macrochlamys* sp. หรือแม้กระทั่งหอยเจดีย์เล็ก, *Lamellaxis gracilis* (Hutton, 1834) และหอยทากกินเนื้อสีชมพู, *Gulella bicolor* (Hutton, 1843) (Dundee and Baerwald, 1984) เป็นต้น ดังนั้นการใช้ลักษณะอื่นๆ อาทิ เช่น การศึกษาระดับโครโมโซม การใช้เทคนิคทางด้านมอร์โฟเมตริก หรือลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ จะช่วยให้การจำแนก มีความชัดเจนและแม่นยำมากยิ่งขึ้น ซึ่งการนำวิธีอื่นๆ มาใช้ในการจำแนก มีผู้ทำการศึกษาไว้ดังนี้

พงษ์รัตน์ และคณะ (2550) ศึกษา spermatogonial metaphase ของหอยทากบก 4 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Ariophantidae, Succineidae, Helicarionidae และ Achatinidae พบว่าเมื่อพิจารณาถึงจำนวนโครโมโซมของหอยทากบกที่ทำการศึกษาใน 4 วงศ์ ดังกล่าว มีค่าแฮพลอยด์ (haploid) อยู่ในช่วง $n = 24$ ถึง $n = 33$ และข้อมูลเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมสามารถนำมาใช้ในการจำแนกหอยทากบกได้ในระดับวงศ์เท่านั้น โดยแต่ละวงศ์จะมีจำนวนโครโมโซมคงที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งหากจะจำแนกให้ได้ถึงระดับชนิด จะต้องมีการศึกษารูปแบบของคาริโอไทป์ และข้อมูลด้านอื่นๆ สนับสนุน

Robert and Kenneth (2004) รายงานว่า หอยเชอริจัดอยู่ในวงศ์ Ampullariidae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศแถบอเมริกาใต้ และแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้หลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย ปัจจุบันยังมีความสับสนเกี่ยวกับข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธาน ซึ่งการใช้สัณฐานวิทยาเพื่อการจำแนกชนิด เพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอ จึงจำแนกโดยใช้ลำดับเบสของ DNA และสามารถระบุได้ว่าหอยเชอริที่พบในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีอย่างน้อย 2 ชนิด คือ *Pomacea canaliculata* และ *Pomacea* sp. และรายงาน ว่า *P. bridgesii* เป็นชนิดที่พบในประเทศศรีลังกา นอกจากนี้ Brand et. al (1990) ได้ศึกษาโครโมโซมของหอยเชอริ *P. canaliculata* พบว่าจำนวนโครโมโซมที่เป็นค่าดิพลอยด์ (diploids) ของหอยเชอริมีจำนวน $2n=28$

Wen and Yen (2004) ศึกษาชีววิทยา และวิเคราะห์จำนวนประชากรของหอยเชอริที่ระบาดและทำความเสียหายต่อระบบเกษตรกรรมในประเทศไต้หวัน พบว่าเป็นหอยเชอริชนิด *P. canaliculata* โดยสันนิษฐานว่าเริ่มมีการระบาดเมื่อ 20 กว่าปีที่ผ่านมา

จากข้อมูลงานวิจัยทางด้านโครโมโซมข้างต้น จะเห็นได้ว่าจำนวนโครโมโซมของหอยทากสามารถนำมาใช้ในการจำแนกหอยทากได้ในระดับวงศ์ (family) เท่านั้น โดยแต่ละวงศ์จะมีจำนวนโครโมโซมคงที่และมีลักษณะเป็นแบบเชิงอนุรักษ์ (conservatism) กล่าวคือหอยที่อยู่ในวงศ์เดียวกันจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ซึ่งหากจะจำแนกให้ได้ถึงระดับชนิด (species) จะต้องมีการศึกษารูปแบบของการจัดเรียงโครโมโซมหรือคาริโอไทป์ และข้อมูลด้านอื่นๆ สนับสนุน โดยอาศัยหลักทาง

อนุกรมวิธานที่ว่า “คาริโอไทป์ (karyotype) ของสิ่งมีชีวิตเดียวกันจะเหมือนกันและจะแตกต่างกันกับคาริโอไทป์ของสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน” (Nakamura, 1985)

ปัจจุบัน ในประเทศไทยมีการศึกษาข้อมูลในระดับกายวิภาคและระดับโครโมโซมของหอยทากน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของหอยสกุล *Pomacea* ซึ่งจัดเป็นหอยศัตรูพืชที่สำคัญ ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้านี้ จึงมุ่งเน้นศึกษาอนุกรมวิธานในระดับโครโมโซม ตลอดจนข้อมูลสนับสนุนทางด้านสัณฐานวิทยาของเปลือก และเขตการแพร่กระจายของหอยสกุล *Pomacea* ที่พบในประเทศไทย เพื่อให้ฐานข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธานของหอยสกุล *Pomacea* มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ / กระดาษเอนกประสงค์ / ไฟฉายและแบตเตอรี่ ตาข่ายกั้นหอย และสวิง สำหรับเก็บตัวอย่างหอย อาหารชนิดเม็ด และผักสด สำหรับเลี้ยงหอย
- เครื่องมือวัดขนาดเปลือกหอย ได้แก่ เวอร์เนีย
- เครื่องมือวัดอุณหภูมิและค่า pH ของน้ำ
- กล้องถ่ายรูปดิจิทัล และภาพถ่ายโครโมโซมขนาดขยาย 4x6 นิ้ว
- อุปกรณ์สำหรับเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษากายวิภาคและโครโมโซม ได้แก่ ชุด Jar ย้อมสี
- สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมโครโมโซม ได้แก่ 0.01 % Colchicin, Giemsa's Solution และ Carnoy Fixative Solution

วิธีการ

การดำเนินการทดลองแบ่งเป็น 3 หัวข้อ ดังนี้

1. สำรวจ/ เก็บตัวอย่าง และจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยสกุล *Pomacea*

โดยสำรวจทุกๆ 2 เดือน ตามแหล่งน้ำธรรมชาติ หรือพื้นที่ทำการเกษตร ตามภาคต่างๆ ของประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างพื้นที่ละ 30 ตัว และบันทึกพิกัดด้วย GPS เพื่อจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยสกุล *Pomacea* ด้วยโปรแกรม ArcView หรือ ArcGis จากนั้นนำตัวอย่างมาพักในตู้กระจกขนาด 25x40x26 เซนติเมตร และอ่างซีเมนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร เพื่อรอจำแนกชนิดจากลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร โดยให้ผักชนิดต่างๆ เป็นอาหาร และเปลี่ยนถ่ายน้ำ สัปดาห์ละ 2 ครั้ง

2. ตรวจสอบชนิดจากสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยสกุล *Pomacea*

นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก ด้วยเทคนิคมอร์โฟเมตริก โดยการถ่ายภาพวาดภาพ และวัดค่า shell length, shell width, last whorl height, aperture length และ aperture width ด้วยเวอร์เนีย จากนั้นจึงเข้าสู่การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ ANOVA จากโปรแกรม SPSS และวิเคราะห์ชื่อตามระบบอนุกรมวิธานของหอย เปรียบเทียบกับเอกสารหอยทากทั้งในและต่างประเทศ ยึดตามเอกสารของ Abbott (1989), Brand et.al (1990) และ Robert and Kenneth (2004) จากนั้นนำข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเชอร์รี่ที่วิเคราะห์แล้ว มาเปรียบเทียบเพื่อคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันไปศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ในขั้นต่อไป

3. ขั้นตอนการศึกษาการโอโตไทป์ โดยศึกษาจากเนื้อเยื่อ gill ดังนี้

3.1 Pre-treatment โดยการฉีด 0.01 -0.02 % colchicines จำนวน 1-2 มล. เข้าไปในหอยเชอร์รี่ เป็นเวลา 3-4 ชม. เพื่อยับยั้งการทำงานของ spindle fiber ในโครโมโซม

3.2 Hypotonic treatment โดยการนำเนื้อเยื่อ gill ของหอย มาแช่ใน hypotonic solution (สารละลาย KCl) ประมาณ 30- 45 นาที เพื่อให้เซลล์บวม

3.3 Fixation โดยการนำเซลล์ไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge 1,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วใช้หลอดดูดส่วนที่เป็น supernatant ออกให้หมด แล้วเติมสาร fixative (Carnoy solution) 3 - 4 ครั้ง

3.4 Air dried slide ดูดตัวอย่างเซลล์ที่ผ่านขั้นตอน fixation ลงบนสไลด์ และทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.5 Staining ย้อมสไลด์ที่แห้งแล้วด้วย 20% Giemsa ที่มีส่วนผสมของ stock Giemsa's Solution เป็นเวลา 30 นาที จึงล้างออกด้วยน้ำกลั่นและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง รอนำไปศึกษาต่อไป

3.6 Analization นำสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 100 X วิเคราะห์โครโมโซมโดยเลือกจากระยะเมทาเฟส (metaphase) ซึ่งมีการกระจายดี ไม่ซ้อนทับกัน นับจำนวนโครโมโซม จับคู่โครโมโซมคู่เหมือน (homologous chromosome) มาจัดเรียงการโอโตไทป์ตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ ถ่ายภาพเซลล์ที่เลือกไว้ จากนั้นใช้ภาพถ่ายมาวิเคราะห์และคำนวณหาค่า relative length (RL) และค่า centromeric index (CI) เพื่อจัดชนิดโครโมโซม ต่อไป

ระยะเวลา ตุลาคม พ.ศ. 2555 – กันยายน พ.ศ. 2556 (รวม 1 ปี)

สถานที่ : พื้นที่เกษตรกรรมและแหล่งน้ำ ภาคต่างๆของประเทศไทย

: ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการสำรวจการระบาดของ/เก็บตัวอย่างและบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์พื้นที่ๆเก็บตัวอย่างตามแผนการสำรวจ ซึ่งจากการสำรวจพบว่าหอยเชอร์รี่เป็นหอยที่มีการระบาดทั่วประเทศไทย มีรายงานการระบาดในภูมิภาคเอเชียหลายประเทศ เช่น ลาว กัมพูชา มาเลเซีย ไต้หวัน เป็นต้น (Figure 1) ในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกติดต่อกันหลายวัน เป็นปัจจัยที่เอื้อให้เกิดการระบาดโดยเฉพาะพื้นที่นาข้าว โดยหอยจะมาตามกระแส น้ำ หอยเชอร์รี่จะวางไข่สีชมพูไว้ตามกิ่งไม้ ต้นหญ้า โคนต้นไม้หรือวัสดุที่อยู่เหนือน้ำ (Figure 2) ไข่หอยเชอร์รี่มี incubation periods 7-14 วัน หลังจากนั้นจะฟักเป็นตัวได้ในระยะเวลา 15 -25 วัน และเจริญเป็นตัวเต็มวัย สามารถผสมพันธุ์/ วางไข่ได้เมื่อหอยมีอายุ 45 -59 วัน (Figure 3) เมื่อศึกษา feeding behavior พบว่าหอยเชอร์รี่สามารถกินได้ตลอดเวลา คิดเป็นน้ำหนักอาหารที่กินเฉลี่ย 49.66 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว/ วัน (n=30) (Table 1) โดยดำเนินการสำรวจในพื้นที่ภาคต่างๆ ดังนี้

ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง กำแพงเพชร ตากและนครสวรรค์ ได้ตัวอย่างหอยเชอร์รี่สกุล *Pomacea* รวมทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอยของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เพื่อรอศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก

ภาคกลางและภาคตะวันตก ได้แก่ ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี และตาก ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่จำนวน 30 ตัว /พื้นที่ นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอยของกลุ่มงานฯ และเพื่อรอกศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่ จำนวน 30 ตัว นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอย ของกลุ่มงานฯ

ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี ปราจีนบุรี และฉะเชิงเทรา ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่ จำนวน 45 ตัว นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอย ของกลุ่มงานฯ

ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดกระบี่ เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และชุมพร ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่สกุล *Pomacea* 30 - 35 ตัวอย่าง/ พื้นที่ นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอยของกลุ่มงานฯ เพื่อรอกศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก

ขณะนี้อยู่ระหว่างนำข้อมูลที่เก็บตัวอย่างหอยเชอรี่ทั้งหมดในปี 2556 เตรียมจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยสกุล *Pomacea* ด้วยโปรแกรม ArcView หรือ ArcGis

การศึกษาขนาดกลุ่มไข่และไข่ โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง และวัดความยาวของกลุ่มไข่และไข่ พบว่ากลุ่มไข่ที่เก็บตัวอย่างได้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.11 - 22.20 ม.ม. และความยาว 15.32 - 55.92 ม.ม. เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ 1.65 - 2.49 ม.ม. และประมาณจำนวนไข่ต่อกลุ่มจากปริมาตรของกลุ่มไข่หารด้วยปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ โดยคำนวณ ตามสูตร ดังนี้

$$\text{ปริมาตรของกลุ่มไข่ (รูปทรงกระบอก, ลูกบาศก์มิลลิเมตร)} = \pi R^2 h$$

เมื่อ π เป็นค่าคงตัว มีค่าประมาณ 3.14

R คือเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่มไข่ (ม.ม.)

h คือ ความยาวของกลุ่มไข่ (ม.ม.)

ผลการศึกษาพบว่า ไข่หอยเชอรี่แต่ละกลุ่มมีจำนวน 286 - 4,303 ฟอง เมื่อนำค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่มาคำนวณค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA พบว่ามีอย่างน้อย 1 ตัวอย่างที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, 99% และ 99.9% และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Tukey's HSD และ Scheffe ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.9% แล้วพบว่ามีกลุ่มแบ่งออกเป็นอย่างน้อย 2 กลุ่ม (Table 2 และ Table 3)

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเชอรี่ จะต้องวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเชอรี่ทั้งหมดที่เก็บในปี 2556 โดยใช้เทคนิค morphometrics ซึ่งขณะนี้กำลังศึกษาจากตัวอย่างบางส่วนที่เก็บจากพื้นที่ภาคเหนือ 60 ตัวอย่าง ภาคใต้ 125 ตัวอย่าง และภาคตะวันตก 60 ตัวอย่าง โดยวัดค่า shell length, shell width, last whorl height, aperture length และ aperture width ด้วยเวอร์เนียร์ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ ANOVA จากโปรแกรม SPSS จากนั้นนำข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยที่วิเคราะห์แล้วมาเปรียบเทียบเพื่อ คัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มีความแตกต่างกัน ไปศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ในปีต่อไป

Taxonomic Hierarchy of *Pomacea canaliculata*

Kingdom Animalia -- Animal,
Phylum Mollusca -- mollusk
Class Gastropoda Cuvier, 1797
Subclass Prosobranchia Milne-Edwards, 1848
Super Order : Caenogastropoda;
Order Architaenioglossa Ampullariidae
SuperFamily: Ampullarioidea
Family: Ampullariidae
Subfamily: Ampullariinae
Tribe: Ampullariini
Genus : Pomacea Perry, 1811
Species *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1828)





Bar Scale = 3 C.M.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทราบจำนวนและ รูปแบบการจัดเรียงโครโมโซม จะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ ที่ช่วยสนับสนุนงานทางด้าน การจำแนกชนิดและระบุชื่อวิทยาศาสตร์ได้แม่นยำยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางอนุกรมวิธานหอยทากศัตรูพืช รวมไปถึงการสำรวจการแพร่กระจายของหอยสกุล *Pomacea* ที่พบในประเทศไทยในปัจจุบัน สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆ เช่น การป้องกันกำจัด ซึ่งหอยดังกล่าวเป็นศัตรูสำคัญในพืชหลายชนิด รวมทั้งยังมีตัวอย่างหอยสกุล *Pomacea* ที่วิเคราะห์ชนิดแล้ว เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นแหล่งค้นคว้าอ้างอิง และสามารถจัดทำเป็นคู่มือ เพื่อการถ่ายทอดแก่เกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางทัศนวรรณ พุ่มกาหลง นักวิชาการเกษตร กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงานภาคสนามและช่วยดูแลให้อาหารหอยทดลองในโรงเรือน และบันทึกข้อมูลที่จำเป็นตลอดการทดลอง จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

- พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา ชัดนารี มีสุขโช และชุตานา คุณสุข. 2550. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของหอยทากบก จำนวน 14 ชนิดของประเทศไทย. วารสารวิจัย มข. 12:(2) หน้า 102-108.
- Abbott, R.T. 1989. Compendium of landshell. Melbourne,Australia : American Malacologist,Inc.
- Brand, E.V., Yokosawa, T. and Fujio, Y. 1990. Chromosome analysis of apple snail *Pomacea canaliculata*. Tohoku Journal of Agricultural Research. 40 (3-4) : 81-89.
- Dundee, D.S. and Baerwald, R.J. 1984. Observations on a micropredator *Gulella bicolor* (Hutton) (gastropoda: pulmonata: streptaxidae). Nautilus 98: 63-68.

Laws, H.M. 1973. The chromosome of some Australian camaenid land snails. *Cytologia*. 38 : p.229-235.

Nakamura, H.K. 1985. A review of molluscan cytogenetic information based on the CISMOCH : Computerized index system for molluscan chromosomes, bivalvia, polyplacophora and cephalopoda . *Venus* 44 (3):” 199-225.

Robert, H.C. and Kenneth, A.H. 2004. Invasive Ampullariid snails : taxonomic confusion and some preliminary resolution based on DNA sequences. *APEC symposium on the management of the golden apple snail*. 24 pp.

Vaught, K.C. 1989. A classification of the living mollusca. U.S.A.: American malacologists.

Wen, L.W. and Yen, C.L. 2004. The biology and population analysis of the golden apple snail in Taiwan. *APEC symposium on the management of the golden apple snail*. 18 pp.

ภาคผนวก



Figure 1 : The distribution of golden apple snail (GAS), *Pomacea* sp.



Figure 2 : Egg cluster of GAS on plant or other surface

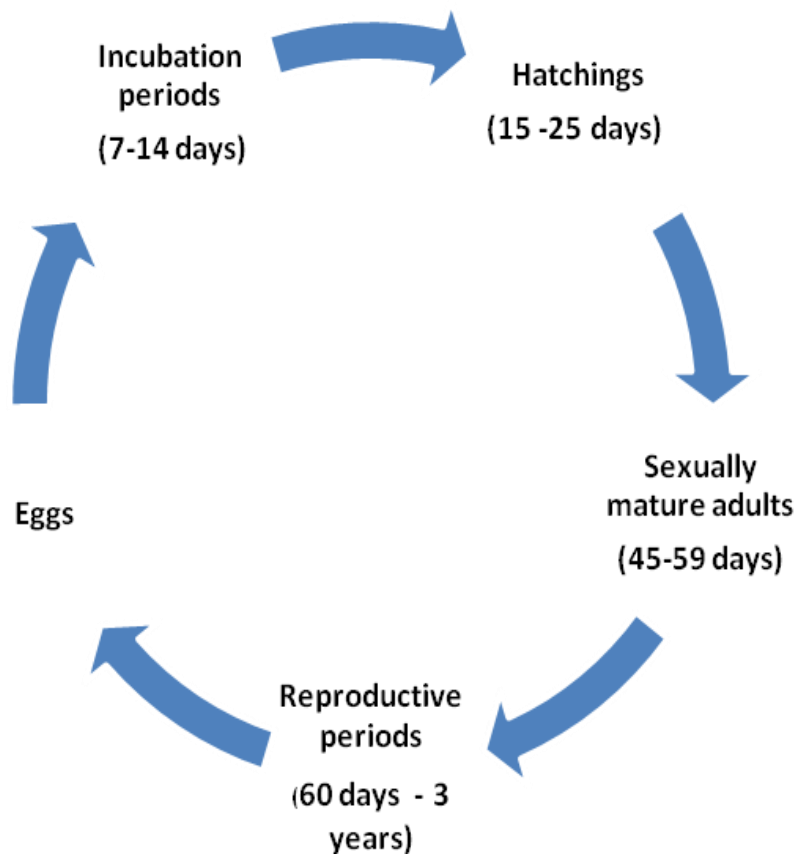


Figure 3 : Life cycle of GAS

Table 1: GAS consumption for one day

Apple snails samples	snail weight (g)	Food weight (g)	% consumption
A1	12.2	6.4	52.459016
A2	21	15.4	73.333333
A3	21	6.5	30.952381
A4	11	3.4	30.909091
A5	12	6.4	53.333333
A6	11	4.5	40.909091
A7	21	10.3	49.047619
A8	16	8.6	53.75
A9	17	9	52.941176
A10	14	7.5	53.571429
A11	15.3	6	39.215686
A12	12.2	6	49.180328
A13	14.5	7.6	52.413793
A14	16.6	4	24.096386
A15	17.7	6.8	38.418079
A16	22.3	11.4	51.121076
A17	18.4	10	54.347826
A18	19.3	11	56.994819
A19	16.3	9	55.214724
A20	16.3	9	55.214724
A21	13.2	7.6	57.575758
A22	13.5	7.5	55.555556
A23	18.4	8	43.478261
A24	10.3	6.6	64.07767
A25	10.4	6	57.692308
A26	21.4	11	51.401869
A27	23.5	12	51.06383
A28	31.2	11	35.25641
A29	21.4	11	51.401869
A30	27.2	15	55.147059
			AVG = 49.66915

Table 2: The characteristic of GAS's egg and egg cluster from North region of Thailand

Sampling site	code	Color of eggs	Egg cluster (m.m.)		number (egg)	Avg. Ø (m.m.)
			Ø	length		
Chiangmai	PcCMN	white	11.85	26.31	853	1.87±0.08
Lampang	PcLPN	white	19.08	28.86	2416	1.87±0.10
Tak	PcTKN	pinkish	17.34	55.08	4303	1.79±0.13
Kampheangphet	PcKPN	pink	16.07	25.44	1943	1.72±0.10
Nakornsawarn	PcNSN	pink	10.22	23.92	587	1.86±0.16

Table 3: The statistic data of GAS's egg clusters from 10 sampling sites from North region of Thailand

Parameter	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
	1.83	1.95	1.75	1.75	1.85	1.79	1.79	1.65	1.61	3.13
	1.75	1.90	1.67	1.75	1.79	1.67	1.75	1.80	2.00	2.95
	1.72	1.98	1.79	1.69	1.53	1.67	1.71	1.83	1.88	3.59
	1.91	2.22	1.74	1.71	1.72	1.63	1.70	2.08	2.01	2.24
	1.90	2.27	1.87	1.93	1.56	2.06	1.69	1.90	1.92	2.83
	1.88	1.97	1.96	1.81	1.62	1.61	1.64	1.97	1.67	2.64
	1.82	1.84	1.98	1.70	1.82	1.78	1.85	1.85	2.01	2.21
	1.89	2.05	2.02	1.80	1.84	1.86	1.92	1.80	1.97	2.52
	1.94	1.95	1.82	1.87	1.95	1.82	1.69	1.97	1.92	2.75
	1.95	1.95	1.84	1.87	1.94	1.55	1.80	1.75	1.79	2.29
	1.91	2.06	1.86	1.69	1.80	1.62	1.70	1.69	1.60	2.40
	1.80	1.88	1.82	1.67	1.95	1.73	1.54	1.90	1.76	1.93
	1.88	1.92	1.99	1.62	1.95	1.79	1.81	1.98	1.64	2.88
	1.86	1.98	1.91	1.64	2.08	1.87	1.86	1.94	1.80	2.34
	1.88	1.86	1.96	1.74	1.76	1.79	1.76	1.87	1.97	1.99
	1.86	1.96	1.85	1.73	1.85	1.77	1.63	2.04	1.80	2.13
	1.86	1.87	1.92	1.70	1.86	1.67	1.67	1.91	1.58	2.55
	1.95	2.04	1.87	1.82	1.79	1.65	1.58	2.00	2.08	1.96
	1.81	2.00	1.74	1.64	1.76	1.46	1.78	2.03	1.98	1.98
Parameter	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
	1.91	1.74	2.01	1.71	1.76	1.65	1.74	1.93	2.12	2.30
	1.70	1.93			1.75		1.55			
	2.01	1.84			1.64		1.62			
	1.94	1.78			1.69		1.74			
	1.91	1.85								
	1.87	1.70								
	1.65	1.89								
	1.99	1.96								
Average egg size	1.87	1.94	1.87	1.74	1.79	1.72	1.72	1.89	1.86	2.48
SD	0.08	0.12	0.10	0.08	0.13	0.13	0.10	0.11	0.16	0.43
R(egg clutch)										
h(egg clutch)										
Volume (Overall)	2900.20	9364.65	8247.51	790.99	13000.55	6879.92	5157.25	4559.77	1961.25	2862.91
Volume (one egg)	3.40	3.81	3.41	2.77	3.02	2.67	2.65	3.56	3.34	7.99
Number of eggs	853.03	2456.42	2415.82	285.92	4303.08	2574.58	1942.55	1281.39	586.64	358.44

$$\text{Volume (Overall)} = \sum R(\text{egg clutch})^2 \times h(\text{egg clutch})$$

$$\text{Volume (one egg)} = \sum r(\text{average egg size})^3$$

$$\text{Number of eggs or clutch size} = \text{Volume (Overall)} / \text{Volume (one egg)}$$