

51303805 : MAJOR: BIOLOGY

KEY WORD : SPECIES DIVERSITY / FRESHWATER SNAIL / MOLECULAR PHYLOGENETICS /
MELANOIDES SNAIL

WIVITCHUTA DECHRUKSA: SPECIES DIVERSITY AND PHYLOGENETIC OF
FRESHWATER SNAILS OF THE GENUS *MELANOIDES* OLIVIER, 1804 IN THAILAND.

THESIS ADVISORS: ASSOC. PROF. DUANGDUEN KRAILAS. Ph. D., SITTIRUK ROYTRAKUL. Ph.
D., AND PD MATTHIAS GLAUBRECHT. Ph. D. 189 pp.

Melanoides spp., freshwater snails are classified into Phylum Mollusca, Class Gastropoda, Family Thiariidae. These snails have highly diverse variations of shell morphology, which makes it difficult to identify them using solely shell morphology. In this study, the snail samples were collected from 130 locations in Thailand, from 2009 to 2013. They were firstly classified by shell morphology and categorized into 11 morphs (MCT₁, MCT₂, MCT₃, MCT₄, MCT₅, MCT₆, MCT₇, MCT₈, MCT₉, MCT₁₀, MCT₁₁). The snail samples from 35 locations were selected as representative samples. They were comparatively studied with specimens from the Museum of Natural History, Berlin, Germany, and those from the Zoologist Museum University, Copenhagen, Denmark. Shell morphology of snail samples were analysed using Geometric Morphometrics (GM). All of them were subsequently compared with snail samples from Lake Malawi, Madagascar Island, Laos, Vietnam, and India.

The results showed that *Melanoides* of Thailand can be categorized into *M. tuberculata* and *M. jugicostis*, which complies with Brandt's report (1974). Radular study confirmed that *Melanoides* spp. has Taenioglossan pattern. However, they could be differentiated by central tooth formula. The central tooth formula of *M. tuberculata* was 3-4/1/3-4 (lateral cusps/central cusps/lateral cusps); and that of *M. jugicostis* was 2-3/1/2-3 (lateral cusps/central cusps/lateral cusps). In addition, the study of Ontogeny and shell morphology of their embryos and juveniles yielded certain distinctive features. *M. jugicostis* was found to possess axial ribs and knobs on the third whorl of its shell. These characteristics also appeared on the out-group snail samples, *Pseudoplotia scabra*. On the shell of *M. tuberculata* was found netlike shell sculpture, with no axial rib and knob. Phylogenetic trees of partial sequence of 16S gene and Cytochrome C oxidase I (COI) gene of *Melanoides* samples were compared to those of *M. tuberculata*, with *Paludomus siamensis*, *Stenomelania* spp. as out-group sample and in-group sample of Thiariidae snail. The study confirmed that the topology of 16S gene and COI gene trees were similar. The specimen sequences could clearly be divided into three groups: Group 1 *M. jugicostis*; Group 2 *M. tuberculata*; and, Group 3 unknown-like *M. tuberculata*, which was in the same genus as *Stenomelania* spp. sequences. The study assumed that Group 3 unknown-like *M. tuberculata* belongs to genus *Stenomelania*, Family Thiariidae. Interestingly, there has never been any report concerning genus *Stenomelania* in Thailand. So, this study of *Melanoides* spp. was the first report of the existence of *Stenomelania* spp. in Thailand.

Department of Biology

Graduate School, Silpakorn University

Student's signature.....

Academic Year 2012

Thesis Advisor's signature 1.....2.....3.....

51303805 : สาขาวิชาชีววิทยา

คำสำคัญ : ชนิดพันธุ์ / หอยน้ำจืด / วิวัฒนาการสายพันธุ์ / สกุล *Melanoides*

วิรัชชุตตา เดชรักษา : ความหลากหลายของชนิดพันธุ์และวิวัฒนาการสายพันธุ์ของหอยน้ำจืดสกุล *Melanoides* Olivier, 1804 ในประเทศไทย. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ. ดร. ดวงเดือน ไกรลาศ, ดร. สิทธิรักษ์ รอยตระกูล และ PD Matthias Glaubrecht, Ph.D. 189 หน้า.

Melanoides spp. เป็นหอยน้ำจืดฝาเดียว จัดอยู่ในไฟลัมมอลลัสกา ชั้นแกสโทรพอดา วงศ์เทอริตี หอยกลุ่มนี้มีรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหลากหลายรูปแบบ จึงทำให้ยากต่อการจัดจำแนกชนิดพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกเพียงอย่างเดียว การศึกษาครั้งนี้เป็นการตรวจสอบชนิดพันธุ์ของหอยสกุล *Melanoides* ในประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างหอยระหว่างปี พ.ศ. 2552 ถึง พ.ศ. 2556 ในพื้นที่ 130 แห่ง จัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือก (ขนาด สีเปลือก การมีลายเส้นริบหรือตุ่ม และลวดลายบนผิวเปลือก) สามารถแบ่งหอยออกได้เป็น 11 รูปแบบ (MCT₁, MCT₂, MCT₃, MCT₄, MCT₅, MCT₆, MCT₇, MCT₈, MCT₉, MCT₁₀, MCT₁₁) คัดเลือกตัวอย่างหอย 35 พื้นที่ เป็นกลุ่มตัวอย่างแทนประชากรหอยในประเทศไทย ศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างหอย *Melanoides* และ หอยชนิดอื่นที่นำมาจาก Museum of Natural History, Berlin ประเทศเยอรมันนี และ Zoologist Museum University, Copenhagen ประเทศเดนมาร์ก เมื่อนำลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกมาศึกษาโดยวิธี Geometric Morphometrics (GM) และเปรียบเทียบกับตัวอย่างหอย จากทะเลสาบมาลาวี ประเทศมาดากัสการ์ ลาว เวียดนาม และอินเดีย

ผลการศึกษาพบว่า หอย *Melanoides* spp. ในประเทศไทย สามารถแยกออกจากได้เป็น 2 กลุ่ม ตามรายงานของ Brandt (1974) คือ *M. tuberculata* และ *M. jugicostis* โดยการศึกษาฟันหอย *Melanoides* spp. มีฟันแบบ Taenioglossan จำนวนฟันของกลุ่มตัวอย่างหอย *M. tuberculata* มีสูตรฟันกลางเป็น 3-4/1/3-4 และกลุ่มตัวอย่างหอยชนิด *M. jugicostis* มีสูตรฟันกลางเป็น 2-3/1/2-3 นอกจากนี้จากการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนระยะเอ็มบริโอและจูเวอนายล์ในถุงฟักตัวอ่อน (brood pouch) พบว่ามีความแตกต่างกัน โดยหอย *M. jugicostis* จะมีการสร้างสันริบแนวตั้ง (axial rib) คมชัด มีตุ่ม (knob) ปรากฏอยู่ตั้งแต่เวอริลที่ 3 เป็นต้นไป ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับหอย *Pseudoplotia scabra* ที่นำมาศึกษาเป็นตัวอย่างนอกกลุ่ม ส่วนหอย *M. tuberculata* จะมีลวดลายบนเส้นผิวเปลือกเป็นรูปตาข่าย และไม่มีการสร้างสันริบหรือตุ่มอย่างชัดเจน เมื่อนำหอยตัวอย่าง *Melanoides* spp. ในประเทศไทย มาสร้างสายวิวัฒนาการโดยใช้ลำดับเบสบางส่วนของ 16S ยีน และ cytochrome C oxidase I (COI) ยีน เปรียบเทียบกับหอย *M. tuberculata* ต้นแบบและใช้หอย *Paludomus siamensis* เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบกับนอกกลุ่ม (outgroup) และ หอย *Stenomelania* spp. เป็นตัวอย่างหอยในวงศ์เทอริตี สายวิวัฒนาการของ 16S ยีน และ COI ยีน ให้ผลเหมือนกัน คือ สามารถแยกหอยออกเป็น 3 กลุ่มอย่างชัดเจน คือกลุ่มที่ 1 *M. jugicostis* กลุ่มที่ 2 *M. tuberculata* รวมหอยต้นแบบ และกลุ่มที่ 3 เป็นหอยกลุ่มที่มีสายวิวัฒนาการใกล้ชิดกับหอยสกุล *Stenomelania* spp. สำหรับหอย *Stenomelania* spp. ยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทยมาก่อนหน้าการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายชนิดพันธุ์ของหอย *Melanoides* spp. ในครั้งนี้ จึงทำให้ได้ข้อมูลที่แน่ชัดเกี่ยวกับชนิดพันธุ์หอยในสกุล *Stenomelania* spp. ในประเทศไทย

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2555

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1.....2.....3.....

Acknowledgments

I would like to express my deepest and sincere indebted to my major advisor, Assoc. Prof. Dr. Duangduen Krailas for her moral support, willingness, comments and suggestions, her love and care to me throughout the course of study.

I also would like to express my appreciation to Prof. Dr. Matthias Glaubrecht, who is my co-advisor for him gave good advice and be guidance for experiment, suggestion, checked and corrected the fault of this thesis since start until successful.

I am greatly indebted to Dr. Sittiruk Roytrakul, who is my co-advisor for him kindness, valuable suggestions, comments and thesis correction.

I would like to thanks Assist. Prof. Dr. Supanyika Sengsai and Dr. Kampanat Tharapoom for their all of comments, good suggestions, reading the manuscript critically of this thesis.

I would like to special thanks for Assist. Prof. Col. Dr. Tunyarut Koonchornboon, who was the external examiner of my thesis defense for her kindness, willingness, invaluable comments and corrections for my thesis.

I wish to thanks Miss France Gimnich and Mr. Dusit Boonmekam for teaching a technique about molecular laboratory to me through intensive support for the daily tips and hints of phylogenetic tree. In particular, thanks Thomas von Rintelen for the very valuable introduction into the world of molecular biology.

I also thanks Dr. Nora Glaubrecht and Julia Eichfeld for their helpful co-operation and their advice throughout of my study.

Also, I would like to thank for Dr. Henning Scholz for supported the data about geometric morphometrics that he has opened to me through intensive support, criticism, and an inexhaustible enthusiasm for the big and small puzzles of statistic in biology.

I also thank Assist. Prof. Urai Chaisri, Mr. Witoon Wattananit and Miss Supattra Suwanmanee for their help and technical assistances in Scanning Electron Microscopy technical guidance (SEM). Each one of Medical Malacology working group, and all of staff in the Parasitology and Medical Malacology Research Unit Silpakorn University (PaMaSU).

I wish to thank for all of staff at Museum für Naturkunde Leibniz Institute for Research on Evolution and Biodiversity at the Humboldt University Berlin, Germany for their helpful in providing facilities and materials for my thesis experiments. Even with my friend from Berlin and Thailand, I would like to thank for their understanding, interest and all the small gestures of help.

Thanks the collections of the Museum für Naturkunde, Berlin (ZMB), Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University and Graduate School Silpakorn University.

I would like to acknowledge the Thailand Research Fund through the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (Grant No. PHD/0225/2550) and the German Academic Exchange Service DAAD for financial support in this work.

Finally, I would like to express my deepest gratitude to my dear parents and members in my family for their love, cheerfulness, helpful, understanding for long-standing support me in every conceivable respect freedoms and encouragements me complete this study.

