



รายงานผลการดำเนินงาน  
ปีงบประมาณ 2558

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ  
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี  
สนองพระราชดำริโดย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

ความหลากหลายและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือ บริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์และ  
สถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ.เวียงสา จังหวัดน่าน และบริเวณพื้นที่  
โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ.แก่งคอย  
จังหวัดสระบุรี

ผู้รับผิดชอบโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิโยรส ทองเกิด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์  
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2558

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ  
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

ความหลากหลายและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือ บริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัย  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดิน  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี  
Species Diversity and DNA Barcoding of Millipedes in the area of Center of  
Learning Network for the Region (CLNR), Chulalongkorn University (Nan  
province and Saraburi province)

อาจารย์ ดร. ปิโยรส ทองเกิด

หน่วยปฏิบัติการวิจัยซิสเทมาติกส์ของสัตว์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2558 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 ก อ.ดร. บังอร กองอิม อ.ดร. ปิยะธิดา พิมพ์วิชัย อ.ดร. รัตน์มณี ชนะบุญ อ.ดร. ณัฐดนัย ลิขิตตระการ และสมาชิกหน่วยปฏิบัติการวิจัยซิสเทมาติกส์ของสัตว์ทุกท่าน ขอขอบคุณ ผศ.ดร. พงชัย หารยุทธนากร สำหรับภาพกิ่งกือจากจังหวัดสระบุรี รวมถึง Prof. Henrik Enhoff จาก Museum of Natural History, Copenhagen ประเทศเดนมาร์ก ที่ช่วยในการตรวจหาชื่อวิทยาศาสตร์ สุดท้ายขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนในงานวิจัยนี้ด้วยดีตลอดมา

## บทคัดย่อ

จากผลการสำรวจตัวอย่างในพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี พบกิ่งก้อทั้งหมด 5 อันดับ 10 สปีชีส์ ถือว่ามีความหลากหลายในระดับอันดับของกิ่งก้อค่อนข้างมาก จากการสำรวจยังพบอีกว่าในจำนวนกิ่งก้อทั้งหมดที่พบนี้เป็นชนิดพันธุ์จำเพาะถิ่น 2 สปีชีส์ และมีอีก 2 สปีชีส์ เป็นกิ่งก้อที่กระจายในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบได้ทั่วไปทั้งบริเวณแผ่นดินใหญ่และพื้นที่ที่เป็นเกาะ การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดพบว่ามีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีน COI ระหว่างสปีชีส์ของกิ่งก้อที่พบบนในพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรีเฉลี่ยถึง 23.8 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างประชากรสปีชีส์เดียวกันที่อาศัยอยู่ในแต่ละพื้นที่มีค่าเฉลี่ยที่ 3.6 เปอร์เซ็นต์

**คำสำคัญ:** กิ่งก้อ น่าน สระบุรี ความหลากหลายทางชีวภาพ ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

## Abstract

The result of Millipedes in the area of Center of Learning Network for the Region (CLNR), Chulalongkorn University (Nan province and Saraburi province) expedition, we found 5 orders and 10 species of millipedes. It shows that these two areas have a great number of millipede order diversities. Among 10 species discovered, 2 species are endemic organisms and others 2 species are wide spread in south-east Asian countries both on the mainland and also the islands. The DNA barcoding results from COI gene showed 23.8% genetic divergent among species from the different orders and 3.6% intraspecific genetic differentiation in each area.

**Keywords:** millipedes, Nan, Saraburi, biodiversity, DNA barcoding

## สารบัญเรื่อง

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

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงชื่อวิทยาศาสตร์ของกิ่งก้อที่พบในพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี.....	6

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	กิ้งกือกระบองใหญ่ <i>Thyropygus siamensis</i> .....	7
รูปที่ 2	กิ้งกือแดง <i>Trigoniulus corallines</i> .....	7
รูปที่ 3	กิ้งกือกระโดด <i>Nepalmatoiniulus</i> sp. ....	8
รูปที่ 4	กิ้งกือตะเข็บ <i>Orthomorpha tuberculifera</i> .....	8



ความหลากหลายชนิดและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือ บริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี

Species Diversity and DNA Barcoding of Millipedes in the area of Center of Learning Network for the Region (CLNR), Chulalongkorn University (Nan province and Saraburi province)

อ.ดร. ปิโยรส ทองเกิด

Dr. Piyoros Tongkerd

หน่วยปฏิบัติการวิจัยซิสเทมาติกส์ของสัตว์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

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

### บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การบริหารจัดการสิ่งแวดล้อมและการพัฒนาคุณค่าความหลากหลายทางชีวภาพเป็นหัวข้องานวิจัยที่มีความสำคัญลำดับต้นๆของประเทศ เนื่องจากประเทศไทยมีระบบนิเวศหลากหลาย โดยเฉพาะที่โดดเด่นคือระบบนิเวศป่าเขตร้อนซึ่งเป็นระบบที่มีถิ่นที่อยู่อาศัยย่อยอยู่มากมาย ประกอบกับอณูภูมิที่เหมาะสมต่อสิ่งมีชีวิต ทำให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพสูง เป็นแหล่งผลิตทรัพยากรขนาดใหญ่ที่จะต้องมีการจัดการที่ดีและยั่งยืน เพื่อการใช้ประโยชน์ในระยะเวลาที่ยาวนานที่สุด สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศแบบนี้ได้ถูกการคัดเลือกทางธรรมชาติให้มีความเหมาะสมและสามารถสืบเผ่าพันธุ์ได้อย่างดีตามกฎของการดิ้นรนเพื่ออยู่รอดของชีวิต การที่เราจะเลือกทรัพยากรต่างๆเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ได้อย่างสมบูรณ์ที่สุด เราจะต้องสามารถแยกความแตกต่างของทรัพยากร ศึกษาอย่างละเอียดถึงกลไกของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด และเข้าใจความเป็นมา วิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตนั้นๆเป็นอย่างดีเสียก่อน จึงจะสามารถบรรลุวัตถุประสงค์ของการบริหารจัดการและพัฒนาคุณค่าความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทยได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

การที่จะเข้าใจกระบวนการต่างๆเหล่านี้ การศึกษาและวิจัยพื้นฐานทางด้านอนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์เป็นความจำเป็นหลักที่จะนำไปสู่การวิจัยที่ต่อยอดและนำไปใช้ประโยชน์สู่ชุมชนได้ การศึกษาโดยทั่วไปเน้นการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอก กายวิภาคศาสตร์การสืบพันธุ์และมีข้อมูลทางด้านระบบนิเวศ และการกระจายทางภูมิศาสตร์ประกอบ ซึ่งเป็นวิธีที่นักอนุกรมวิธานใช้กันมานานและค่อนข้างมีประสิทธิภาพในกลุ่มสิ่งมีชีวิตหลายชนิด อย่างไรก็ตามการศึกษาลักษณะต่างๆเหล่านี้ก็ทำให้เกิดข้อโต้แย้งมากมายเกี่ยวกับการประเมินความแตกต่างระหว่างชนิดโดยใช้ความคิดเห็นของนักวิทยาศาสตร์ผู้ศึกษา ในปัจจุบันจึงนิยมใช้การวิเคราะห์แบบอื่นๆ เช่น การวิเคราะห์ลักษณะทางโมเลกุลดีเอ็นเอ หรือโปรตีน เพื่อช่วยหาคำตอบเรื่องความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ และประเมินความแตกต่างของชนิดโดยศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับประชากร เพื่อตรวจสอบระยะเวลาการแยกกันทางการสืบพันธุ์และรวบรวมผลอย่างถูกต้องเพื่อให้การจัดจำแนกสิ่งมีชีวิต มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับที่เกิดขึ้นจริงในธรรมชาติมากที่สุด การศึกษาอนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์โดยวิธีการนี้ได้ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันและนำไปสู่การคิดค้นหารหัสพันธุกรรมหรือลำดับดีเอ็นเอสั้นๆที่สามารถนำมาใช้บอกลักษณะเฉพาะของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดได้ 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 ส่วนในพืชนั้นค่อนข้างหายากและมักพบที่ใช้ส่วนของดีเอ็นเอในนิวเคลียสหรือยีนในคลอโรพลาสต์แทน

ในประเทศไทยดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่ามีระบบนิเวศที่หลากหลายและมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง จึงทำให้การศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์ในสิ่งมีชีวิตต่างๆมีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในดินซึ่งเป็นถิ่นอาศัยที่สำคัญในระบบนิเวศ เป็นแหล่งอาหารของพืชและเป็นบ้านที่พักพิงของสัตว์ต่างๆมากมาย ประกอบกับการศึกษาระบบสังคมความสัมพันธ์ทางนิเวศวิทยาของสิ่งมีชีวิตในดินนั้นยากแก่การสังเกตและต้องใช้อุปกรณ์ที่ทันสมัยเข้ามาช่วยในการศึกษา จึงทำให้ขาดความเข้าใจและมีข้อมูลพื้นฐานอยู่น้อยมากเกี่ยวกับสังคมสิ่งมีชีวิตในดิน โดยกิ่งก้ออาศัยอยู่บนดินเป็นผู้ย่อยสลายซากอินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง การเคลื่อนที่ไปตามที่ต่างๆ พร้อมๆ กับการถ่ายมูลออกมาเป็นเสมือนการหว่านปุ๋ยอินทรีย์ให้กับระบบนิเวศ เรียกว่าหน้าที่ในเชิงนิเวศได้อย่างสมบูรณ์ เกิดความสมดุลและสมบูรณ์ของระบบนิเวศ ปรับปรุงดินให้เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืช หน้าที่ในเชิงนิเวศดังกล่าวได้สร้างประโยชน์นานับประการแก่มนุษย์เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในด้านเกษตรกรรม และสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตาม กิ่งก้อ

แต่ละชนิดหรือแต่ละกลุ่มย่อยมีถิ่นอาศัยย่อย (microhabitat) และความต้องการอาหาร (nich) ที่แตกต่างกันออกไปด้วยเช่นกัน ข้อมูลเหล่านี้นับเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการนำสัตว์ที่มีประโยชน์อยู่แล้วมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้นหรือเกิดประโยชน์สูงสุด ไม่ว่าจะเป็นด้านการบำรุงหรือปรับปรุงดินในระบบนิเวศต่างๆ นับเป็นการเพิ่มมูลค่าเพิ่มให้กับกิ่งก้อ ดังนั้นนอกจากการศึกษาความหลากหลายชนิดของกิ่งก้อในหมู่เกาะแสมสารแล้วยังดูความสัมพันธ์ต่างๆ ทั้งทางกายภาพและชีวภาพเพื่อให้ได้ข้อมูลในเชิงลึกและสามารถเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการฟื้นฟูหรือพัฒนาระบบนิเวศต่างๆ ทั้งระบบนิเวศป่าไม้ หรือระบบนิเวศเกษตร รวมถึงสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติที่ดีต่อการเพาะเลี้ยง อีกทั้งยังสร้างฐานข้อมูล DNA เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการปรับปรุงการจดจำแนก ทำให้การศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานมีความทันสมัยและสามารถเชื่อมโยงไปยังข้อมูลทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้อีกด้วย การศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของกิ่งก้อในประเทศไทยนับจากงานวิจัยของ Henrik Enghoff ในปี ค.ศ. 2005 ที่พบว่ามีประมาณ 100 สปีชีส์ มีการวิจัยเพิ่มขึ้นจากสมศักดิ์ ปัญหา และปิยะธิดาพิมพ์วิชัย อย่างไรก็ตามคาดว่าน่าจะมีกิ่งก้อดินในประเทศไทยประมาณ 500 สปีชีส์ ซึ่งต้องเร่งรีบทำการศึกษากันต่อไป ก่อนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ หรือควบคุมสปีชีส์ต่างถิ่น ดังนั้นการคัดพันธุ์ท้องถิ่นของประเทศไทยที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์จึงเป็นเรื่องที่จะต้องศึกษาอย่างเร่งด่วน ขณะนี้การจัดจำแนกชนิดของกิ่งก้อนั้นสามารถใช้ลักษณะภายนอกและกายวิภาคศาสตร์เปรียบเทียบเป็นหลัก แต่เนื่องจากการเก็บตัวอย่างแต่ละพื้นที่มักพบความหลากหลายของลักษณะภายนอกของกิ่งก้อเป็นจำนวนมากทำให้เริ่มมีการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดเข้ามาช่วยในการจัดจำแนก ในจำนวนนี้ส่วนมากเป็นกิ่งก้อได้จากประเทศในแถบยุโรปและอเมริกา ส่วนในเอเชีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ยังไม่มีตัวอย่างที่ทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดอยู่เลย ประกอบกับชนิดพันธุ์ท้องถิ่นบ้านเรายังมีอีกจำนวนมากที่ยังรอการศึกษา การที่เรามีข้อมูลพื้นฐานทางด้านอนุกรมวิธานเหล่านี้จึงเป็นประโยชน์ต่อการคัดสรรชนิดพันธุ์ที่มีประโยชน์ เพื่อนำไปใช้ในการเกษตรที่ยั่งยืนต่อไปได้

### เอกสารที่เกี่ยวข้อง

สังคมสิ่งมีชีวิตในดินนั้น เป็นสังคมที่ใหญ่ที่สุดของความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศบก ประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตกว่าล้านชนิดที่อาศัยอยู่ในดิน โดยส่วนใหญ่ยังไม่ได้ถูกค้นพบและเชื่อว่าจะมีความสัมพันธ์ที่พากับกลุ่มสิ่งมีชีวิตเล็กๆในกลุ่มของจุลินทรีย์ (Decaëns et al., 2006) การศึกษาในระดับโมเลกุลหรือดีเอ็นเอมักจะถูกนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาอนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์ของกลุ่มสิ่งมีชีวิตในดิน ทั้งในระดับความสัมพันธ์ระหว่างสปีชีส์หรือระหว่างประชากรในสปีชีส์เดียวกัน (Frati et al., 2000) โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวในการระบุสปีชีส์ แสดงความจำเพาะของแต่ละสปีชีส์ และสามารถจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Herbert et al., 2003; Decaëns et al., 2008)

กิ้งกือ (millipedes) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีบทบาทสำคัญประเภทหนึ่ง ที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมในดิน กิ้งกือย่อยสลายซากขอนไม้ผุ ใบไม้หลุดร่วงหล่นลงมาทับถมกัน โดยการย่อยสลายเกิดจากการช่วยทำงานของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และทำการย่อยโมเลกุลของสารประกอบทางเคมีในธรรมชาติ ให้กลายเป็นฮิวมัส มูลจะกลายเป็นปุ๋ยให้กับต้นไม้ ย่อยสลายซากใบไม้ ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารในพื้นที่ดิน มีรายงานว่าพบกิ้งกือประมาณ 10,000 ชนิดในโลก ที่มีการรายงานแล้ว แต่ก็ยังคาดกันว่าน่าจะมีถึง 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 รวมไปถึงกิ้งกือนิยมใช้ในไมโทคอนเดรีย ตำแหน่ง 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 ตั้งแต่กระบวนการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อบางส่วนของตัวอย่าง กระบวนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่ต้องการในหลอดทดลอง จนไปถึงกระบวนการวิเคราะห์หาลำดับเบส ซึ่งวิธีการนี้สามารถใช้กับสัตว์ที่มีขนาดเล็กมากๆ หรือสามารถตรวจสอบสปีชีส์โดยไม่ต้องใช้ตัวเต็มวัย (adult) เหมือนการศึกษาอนุกรมวิธานแบบเดิม (Rowley et al., 2007) อย่างไรก็ตาม การศึกษาอนุกรมวิธานโดยใช้ลักษณะภายนอกและกายวิภาคศาสตร์ก็มีความสำคัญมาก รวมไปถึงข้อมูลอื่นๆ เช่น ข้อมูลทางด้านนิเวศวิทยา พฤติกรรมหรือการศึกษาชีวภูมิศาสตร์ ทำให้การจัดจำแนกมีความชัดเจนหน้าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

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) โดยมีทั้งข้อมูลดีเอ็นเอและข้อมูลอนุกรมวิธานพื้นฐานอื่นๆ ของตัวอย่างอ้างอิง โดยชื่อวิทยาศาสตร์ที่ระบุนั้นเป็นชื่อจากการศึกษาอนุกรมวิธานแบบเดิมที่มีมาอย่างค่อนข้างถูกต้องโดยผู้เชี่ยวชาญสาขาอื่นๆ มาช่วยตรวจหาชื่อ

วิทยาศาสตร์ 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 พืชสัตว์มีกระดูกสันหลัง ได้แก่ นก ค้างคาว สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด และกลุ่มของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ได้แก่ หนอนตัวกลม ผีเสื้อ มด แมลงหางดีด รวมไปถึงไส้เดือนดินด้วย (Huang et al., 2007) การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตในดินจำพวกแมลงหางดีด และไส้เดือนดิน เริ่มต้นขึ้นในปี ค.ศ. 2004 โดย Hogg & Hebert ศึกษาแมลงหางดีดในเขตใกล้บริเวณขั้วโลกเหนือพบว่าชิ้นส่วนของดีเอ็นเอตำแหน่ง COI นั้นเหมาะสมที่จะจำแนกระดับชนิดได้ ทั้งนี้การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือในประเทศไทย ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน งานวิจัยชิ้นนี้จะเริ่มจากกิ้งกือที่หมู่เกาะแสมสาร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางโมเลกุล และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยด้านอื่นๆต่อไป เนื่องจากกิ้งกือเป็นสัตว์ที่มีความหลากหลายมาก มีบทบาทต่อทั้งในเชิงวิทยาศาสตร์พื้นฐาน การเกษตร นิเวศวิทยาและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งไปทั้งงานวิจัยพื้นฐาน เพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารระดับชาติ และนานาชาติที่มีผลกระทบสูง และนำไปประยุกต์ใช้ในวงการเกษตรของชาติต่อไป

### วัตถุประสงค์

เพื่อทำการศึกษาวิจัยพื้นฐานและต่อยอด ในสัตว์จำพวกกิ้งกือในพื้นที่บริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี เพื่อนำไปใช้ในการเพิ่มธาตุอาหารในดิน และจัดทำฐานข้อมูลชนิด เพื่อเป็นพื้นฐานในการศึกษาด้านอื่นๆ และนำทรัพยากรไปใช้ประโยชน์ต่อไป

### วิธีดำเนินการวิจัย

- 1 รวบรวมตัวอย่างกิ้งกือ บริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี

- 2 การจัดทำแนกสปีชีส์ใช้การเปรียบเทียบกับตัวอย่างต้นแบบ (type specimen) เป็นหลัก แบ่งตัวอย่างที่เก็บได้ใหม่เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยา การเจริญของตัวอ่อน และเก็บตัวอย่างส่วนหนึ่งแบบแช่แข็งที่ -80 องศา จัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายของกิ้งกือ โดยจัดเก็บตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างต้นแบบไว้ในพิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติวิทยาแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อให้นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกสามารถเข้าถึงและมาศึกษาได้
- 3 นำข้อมูลจากการวิเคราะห์ทั้งหมดมาสร้างมูลค่าเพิ่มด้วยการจัดทำเป็นฐานข้อมูลมาตรฐานของกิ้งกือของไทย โดยยึดแนวมาตรฐาน IUCN (World Conservation Union) เพื่อใช้ในการบริหารจัดการทรัพยากรกิ้งกือให้เกิดประโยชน์สูงสุดแก่ประเทศอย่างยั่งยืน

### ผลการศึกษา

1. เก็บข้อมูลในพื้นที่บริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี

ความหลากหลายของกิ้งกือในพื้นที่บริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี

ประกอบด้วยกิ้งกือ 5 อันดับ รายละเอียดดังตารางที่ 1

#### กิ้งกือกระบอก

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

#### กิ้งกือตะเข็บ

4. Order Polydesmida

#### กิ้งกือกระสุน

5. Order Sphaerotheriida

ตารางที่ 1 แสดงชื่อวิทยาศาสตร์ของกิ้งกือที่พบในบริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี

ที่	อันดับ (Order)	ชื่อวิทยาศาสตร์	พื้นที่	
			น่าน	สระบุรี
1	Spirostreptida	<i>Thyropygus siamensis</i>	-	✓
2	Spirostreptida	<i>Thyropygus uncinatus</i>	-	✓
3	Spirostreptida	<i>Thyropygus</i> sp.	✓	-
4	Spirostreptida	<i>Chonecambala crassicauda</i>	✓	-
5	Spirostreptida	<i>Anurostreptus sculptus</i>	-	✓
6	Spirobolida	<i>Benoitolus siamensis</i>	✓	-
7	Spirobolida	<i>Trigoniulus corallinus</i>	✓	✓
8	Julida	<i>Nepalmatoiniulus</i> sp.	✓	-
9	Polydesmida	<i>Orthomorpha tuberculifera</i>	-	✓
10	Sphaerotheriida	<i>Zephronia viridescens</i>	✓	-

2. รูปกิ้งกือที่พบของการเก็บข้อมูลพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ พื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี



รูปที่ 1 กิ้งกือกระบอกใหญ่ *Thyropygus siamensis* รูปโดย ผศ.ดร.พงษ์ชัย หาญยุทธนากร



รูปที่ 2 กิ้งกือแดง *Trigoniulus corallinus*





รูปที่ 3 กิ้งกือกระโดด *Nepalmatoiniulus* sp.



รูปที่ 4 กิ้งกือตะเข็บ *Orthomorpha tuberculifera* รูปโดย ผศ.ดร.พงษ์ หาญยุทธนากร

จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดจากพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ พื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี มาสร้างมูลค่าเพิ่มด้วยการจัดทำเป็นฐานข้อมูลมาตรฐานของกิ้งกือของไทย โดยยึดแนวมาตรฐาน IUCN (World Conservation Union) จากนั้นทำการวิเคราะห์ลำดับเบสประมาณ 150 ตัวอย่าง และได้นำข้อมูลทั้งหมดเข้าฐานข้อมูล Genbank เรียบร้อยแล้ว

### ตัวอย่าง DNA Barcode ของกิ้งกือชนิด *Thyropygus siamensis*

ลำดับเบสของยีนไมโทคอนเดรีย Cytochrome Oxidase I และรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดใน GenBank  
COI (GenBank accession KC519511)

```
>gi|532131066|gb|KC519511.1| Thyropygus siamensis voucher
CUMZ-D00047 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene,
partial cds; mitochondrial
GGAACTATATACTTAATCTTTGGTGCCTGAGCAGCTTTAGTGCGATCTTCCTAAGCATTCT
TAATTCGACTTGAACCTAAGTCAACCAGGAAGCTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATGT
AATTGTAACAGCCCATGCGTTCGTAATAATTTTTTTTTATAGTAATGCCAATTATAATTGGA
GGATTTGGAACTGATTAGTCCCTTTAATATTAGGTGCCCCGACATGGCATTCCCCCGAA
TAAATAACATAAGATTCTGATTGTTACCCCTGCATTATTTTTACTTTTAGCCTCTTCCGC
TGTAGAAAAAGGAGCCGGAACAGGTTGAACAGTTTTACCCCTTTGGCTGCAACATTAGCC
CATAACAGCCCTCAGTAGATATAGCTATTTTCTCCCTACACCTCGCAGGTGCCTCCTCAA
TTCTAGGGGCCATTAATTTTATTACCACTATTATTAACATACGAACCGCAGGCATACTATT
TGAACAAATACCACTATTTCGTGTGAGCAGTAAAAATTACTGCTATTCTTCTTTTACTATCA
CTACCAGTCTTAGCAGGAGCAATCACATACTTCTCACTGACCGAAATTTTAATACCTCTT
TTTTTGATCCTGCTGGTGGTGGAGATCCTATTCTATAACCAACACTTATTC
```

ลำดับเบสของยีนไมโทคอนเดรีย 16SRNA และรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดใน GenBank

16S rRNA (GenBank accession KC519586)

```
>gi|532131170|gb|KC519586.1| Thyropygus siamensis voucher
CUMZ-D00047 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial
GGTTTTTTGAATTTAGATAAAAAATCAGGCCTGCCCACTGATGAAGGGCTGCAGTATTTTG
ACTGTACAAAGGTAGCATAATCATTAGTCTTTTTAATTGGGGACTGGTATGAAAGGTTAGAC
GGGGATAAGCTGTCTCAATTATAAAAAATGAATTTTTATTTTTAAGGAAAAGAGCTTAAATCT
TTCAAGGGGACGAGAAGACCTATTAAATTTGATATAATAAATTATTTTTAATTATATAAAA
AGAAGTAAGTATATATTAATTTTGCTGGGGCGGCGTGTTTATAACAGTATTATATTTTAAAT
TAAGTAAATAGCGGGTTTTTTGATCCAAAGAGGTTGATATTAGATAAAATTAATATAGGGAT
AACAGCGTGATATTTTTTTGAGAGTTCCTATTGACAAGAATGTTTTCGACCTCGATGTTGGA
TTAAGAAGTCTTATTGGTGCAGTAGTTTTTTGAAGAAGTCTGTTTCGACCTTTAAATCTT
```

ตัวอย่าง DNA Barcode ของกิ้งกือชนิด *Thyropygus uncinatus*

ลำดับเบสของยีนไมโทคอนเดรีย Cytochrome Oxidase I และรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดใน Genbank  
COI (GenBank accession KC519510.1)

```
>gi|532131064|gb|KC519510.1| Thyropygus uncinatus voucher
CUMZ-D00046 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene,
partial cds; mitochondrial
GGAACTATATATTTAATCTTTGGTGCCTGAGCAGCCTTAGTGGGTTCTTCACTAAGCATTC
TAATTCGCCCTTGAAGCTCAGCCAACCTGGAAGTTAATTGGTGATGATCAAATCTATAATGT
AATTGTAACAGCCCACGCATTTGTAATAATTTTTTTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGA
GGTTTTGGAAATTGACTAGTCCCCCTAATATTAGGTGCCCTGACATAGCATTTCCCCGAA
TAAATAATATAAGATTTTGTATTATTACCCCTGCATTATTTTTACTTTTAGCTTCTTCCGC
TGTAGAAAAAGGAGCCGGAACAGGCTGAACAGTTTACCCTCCTCTAGCTGCAACATTAGCA
CATAACAGGACCTTCAGTAGACATAGCCATTTTCTCCCTACACCTCGCAGGTGCTTCTTCAA
TTCTAGGAGCTATCAATTTTCATCACCACTATTATTAATATAACGAACTGCAGGTATACTATT
TGAACAAATACCACTATTTGTGTGAGCAGTAAAAATTACTGCTATTCTTCTTTTACTATCC
CTACCTGTCTTAGCAGGAGCAATCACTATACTCCTTACCGACCGAACTTTAACACCTCCT
TTTTTGACCCAGCTGGAGGGGGAGATCCCATCCTTTACCAACACTTATTC
```

ลำดับเบสของยีนไมโทคอนเดรีย 16SRNA และรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดใน Genbank

16S rRNA (GenBank accession KC519585.1)

```
>gi|532131169|gb|KC519585.1| Thyropygus uncinatus voucher
CUMZ-D00046 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial
GGTTTTTTGAGTTTAGATAAAAAATCAGGCCTGCCCACTGATGAAGGGCTGCAGTATTTTG
ACTGTACAAAGGTAGCATAATCATTAGTCTTTTAATTGGGGACTGGTATGAAAGGTTAGAC
GGGAATAAGCTGTCTCAATTGTAAGAATAAACTTTATTTTTAAGGAAAAGAGCTTAAATTT
TTCAAGGGGACGAGAAGACCCCTATTAATTTGATATAGTAAGTTATTTTTGGTTGTATAAA
AGAAGTAAATGTATATTAATTTTGCTGGGGCGGTGTGTTTATACTTTATTATAATTTAAT
TTAGTAAATAGCGAGTTTTTTGATCCAAGGAGATTGATATTAGATAAAATTAATAAGGGAT
AACAGCGTGATATTTTTTTGAGAGTTCTTATTGACAAGAATGTTTGCACCTCGATGTTGGA
TTAAGAAGTCTTATTGGTGCAGTAGTTTTTTGAAGAAGGTCTGTTCGACCTTTAAATTTCTT
```

ตัวอย่าง DNA Barcode ของกิ้งกือชนิด *Chonecambala crassicauda*

ลำดับเบสของยีนไมโทคอนเดรีย Cytochrome Oxidase I และรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดใน Genbank  
COI (GenBank accession KC519467.1)

```
>gi|532130978|gb|KC519467.1| Chonecambala crassicauda voucher
CUMZ-D00001 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene,
partial cds; mitochondrial
GGAACCATATATTTAATCCTTGGTGCCTGGGCAGCCATAATCGGAACCTCTCTAAGTCTAC
TAATCCGTATAGAAGTACTAGGCCAACCGGGTAGCCTAATTGGAGATGACCAAATCTACAATGT
AATTGTTACCGCCACGCTTTCGTAATAATTTTCTTTATAGTTATAACCCATTATAATTGGT
GGCTTTGGAAATTGACTAGTACCGCTAATACTAGGTGCCCTGATATAGCATTTCACGAA
TAAACAACATGAGATTCTGATTACTTCCACCATCCTTATTACTACTCCTATCATCATCAAC
AGTAGAAAAAGGTGCAGGTACTGGTTGAACAGTATATCCACCTTTAGCAGCTAATATTTCT
CACAGCGGACCAAGTGTAGATATAGCAATCTTCTCCCTTCATTTGGCTGGAGCATCTTCAA
TCCTAGGAGCAATTAACCTTCATCACAACAATTATTAATATAACGAACCTTCAGGCATACTTCT
TGAACAAATACCTCTATTTCGTGTGAGCTGTAAAAATCACAGCAATCCTACTACTACTGTCC
CTGCCTGTATTAGCCGGAGCTATTACCATACTTCTAACAGACCGTAATTTTAATACATCAT
TCTTTGACCCAGCAGGAGGGGGAGATCCAATCCTATAACCAACACTTATTC
```

ลำดับเบสของยีนไมโทคอนเดรีย 16SRNA และรหัสดีเอ็นเอบาร์โค้ดใน Genbank

16S rRNA (GenBank accession KC519541.1)

```
>gi|532131125|gb|KC519541.1| Chonecambala crassicauda voucher
CUMZ-D00001 16S ribosomal RNA gene, partial sequence;
mitochondrial
GGTTTTTTGTGATTGGATAAAAAATCAGGCCTGCCCGCTGTTGAAGGGCTGCAGTATTTTG
ACTGTACAAAGGTAGCATAATCATTAGTCTTTTAATTGGGGACTGGTATGAAAGGTTTGAC
GGGAGTTGACTGTCTCTATGGTATTTATGAATTTATCTTTTTTTGTGAAAAGACAAAATTG
GTCAAAGGGACGAGAAGACCTATTAATTTAATAGGTTTATGTATTTCCGGTTTGGTTAT
GTTGATATATGTAGTTTTATTGGTTGGGGCGACTAGTGAGTGACAACACTGAGAATAAGT
ATTGTGGTTTTAGTAATTTTGGAGCCATTAGGATTGATATTAGATAAAATTAATATAGGGAT
AACAGCGTAATATTTTTTTGAGAGTTCATATTGACAAAAGTGTGTTGCGACCTCGATGTTGGA
TCAAGGAGTCTATTTGGTGCAGAAGCTAAATTAGATGGTCTGTTTCGACCATTAAATTCCT
```

จากการวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดพบว่ามีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีน COI ระหว่างชนิดของกิ้งกือที่พบบนหมู่เกาะแสมสารเฉลี่ยถึง 23.8 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างประชากรสปีสี่สัปดาห์ที่อาศัยอยู่คนละเกาะมีค่าเฉลี่ยที่ 3.6 เปอร์เซ็นต์

## สรุปและวิจารณ์ผล

จากการสำรวจความหลากหลายของกิ้งกือในพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรี พบว่ามีความหลากหลายค่อนข้างสูง และพบชนิดพันธุ์จำเพาะถิ่น 2 ชนิดคือ กิ้งกือกระบอกน่าน *Thyropygus* sp. และกิ้งกือกระบอก *Chonecambala crassicauda* และอีก 2 ชนิด คือ กิ้งกือแดง *Trigoniulus corallinus* และ กิ้งกือกระโดด *Nepalmatoiniulus* sp. ที่มีการบันทึกว่าเป็นชนิดที่มีการกระจายตัวกว้างพบได้ทั้งบนแผ่นดินใหญ่ และบนเกาะ และพบได้ทั่วไปในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยกิ้งกือแดงเป็นกิ้งกือที่เป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่เข้ามาระบาดของในประเทศไทยจึงพบได้ทั่วไปตามแหล่งชุมชน ตามกระถางต้นไม้ในสวน เป็นต้น จากการศึกษา กิ้งกือที่ในพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรีในครั้งนี้ ทำให้พบว่าพื้นที่และทรัพยากรที่ได้รับ การดูแลอนุรักษ์ผืนป่าดั้งเดิมโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ยังคงทำให้ ทำให้ความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตยังคงอยู่ และสามารถดำรงเผ่าพันธุ์ต่อไปได้ เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่อื่นๆ ที่ป่าถูกทำลายไปมาก ทำให้พื้นที่ทั้งสองนี้เป็นแหล่งเรียนรู้ทางธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ เป็นตัวอย่างและแนวทางของการอนุรักษ์พื้นที่ต่อไปก่อนที่จะเข้าไปพื้นที่เหล่านั้น

จากการวิเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดพบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีน COI ระหว่างสปีชีส์ของกิ้งกือที่พบในพื้นที่ป่าอนุรักษ์และสถานีวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อ. เวียงสา จังหวัดน่าน และ บริเวณพื้นที่โครงการพัฒนาที่ดินจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย-สระบุรี อ. แก่งคอย จังหวัดสระบุรีเฉลี่ยถึง 23.8 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างประชากรสปีชีส์เดียวกันที่อาศัยอยู่คนละเกาะมีค่าเฉลี่ยที่ 3.6 เปอร์เซ็นต์ การพบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างสปีชีส์ที่มีค่าสูงนั้นเนื่องจากแต่ละสปีชีส์มาจากคนละอันดับกัน ทำให้ความแตกต่างที่ได้เป็นความแตกต่างระหว่างอันดับของกิ้งกือ ค่าของความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับสปีชีส์ในสกุลเดียวกันของกลุ่มกิ้งกือทั่วไปที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ในยีน COI นั้น จะมีค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมประมาณ 13-16 เปอร์เซ็นต์ สำหรับค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรสปีชีส์เดียวกันที่อาศัยอยู่คนพื้นที่ที่มีค่าเฉลี่ยปานกลาง ที่สามารถทำให้คาดเดาได้ว่าวิวัฒนาการกำลังอยู่ในกระบวนการการเกิดสปีชีส์ใหม่ระหว่างประชากรที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ต่างกัน อาจต้องใช้เวลามากกว่านี้ในการเกิดสปีชีส์ใหม่ และเราสามารถติดตามตรวจสอบได้จากการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดต่อไป

ทั้งนี้การศึกษาความหลากหลายและดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกิ้งกือนี้ สามารถทำให้เรารู้ถึงวิวัฒนาการที่กำลังเกิดขึ้นในกลุ่มประชากรต่างๆ ทั้งที่อาศัยอยู่บนเกาะและบนแผ่นดินใหญ่ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

ที่ได้ระหว่างสปีชีส์ยังสามารถทำให้เราทราบถึงแนวทางการอนุรักษ์พื้นที่และทรัพยากรสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะประชากรที่อาศัยอยู่บนเกาะและมีแนวโน้มการสูญพันธุ์สูงอีกด้วย ดังนั้นการวิจัยในปัจจุบันจึงควรมุ่งไปยังงานวิจัยพื้นฐาน เพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารระดับชาติ และนานาชาติที่มีผลกระทบสูง และนำไปประยุกต์ใช้ในวงการเกษตรของชาติต่อไป

### 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 purpuresea*, 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 *Astraptes 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 Chorzognathen 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 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
โทรศัพท์ 02-218-5273 โทรศัพท์มือถือ 089-149-7791  
โทรสาร 02-218-5273 E-mail: piyoro@hotmai.com; piyoro\_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. Siriwut, W., Edgecome, G.D., Sutcharit, C., **Tongkerd**, P. and Panha, S. 2015. First record of the African Indian centipede genus *Digitipes* Attems, 1930 (Scolopendromorpha: Otostigminae), from Myanmar and the systematic position of a new species based on molecular phylogenetics. *Zootaxa*, 3931(1): 71-87.
2. Sutcharit, C., Ablett, J., **Tongkerd**, P., Naggs, F. and Panha, S. 2015. Illustrated type catalogue of *Amphidromus* Alber, 1850 in the Natural History Museum, London and descriptions of two new species. *ZooKeys*, 492: 49-105.
3. 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.
4. 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.
5. **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.
6. 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>.

7. 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.
8. 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.
9. Chanabun, R., Sutcharit, C., **Tongkerd**, P. and Panha, S. 2013. The semi-aquatic freshwater earthworms of the genus *Glyphidrilus* Horst, 1889 from Thailand (Oligochaeta, Almidae) with re-descriptions of several species. *ZooKeys*, 265: 1-76.
10. 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: Almidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, 60(2): 265-277.
11. 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: Almidae). *Zootaxa*, 3458: 120-132.
12. 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.
13. 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]
14. 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]

15. 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: -]
16. 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]
17. 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: -]
18. 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: -]
19. 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]