

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของคลาโดเซอรา
สกุล *Karualona* ที่พบในประเทศไทย

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุปิยนิษฐ์ ไม้แพ
รองศาสตราจารย์ ดร.พรศิลป์ ผลพันธ์

สังกัด

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ.และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รหัสโครงการ : MRG5280030
ชื่อโครงการ : การค้นพบทางสัณฐานวิทยาของ *Karualona* ที่พบในประเทศไทย
ชื่อนักวิจัย : สุปิยนิษฐ์ ไม้แพ
E-mail Address : supiyanit.m@psu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ : มีนาคม 2552-มีนาคม 2554

บทคัดย่อ

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคลาโดเซอราสกุล *Karualona* จากตัวอย่างในแหล่งน้ำจืดของประเทศไทย จากการศึกษาพบความแปรผันของลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งภายนอกและภายใน อย่างไรก็ตามยังมีลักษณะบางประการ คือ ลักษณะหนามบริเวณท้ายลำตัวและขาคู่ที่ 2 ที่มีความเสถียรในและระหว่างประชากร จึงสามารถใช้เป็นลักษณะทางอนุกรมวิธานในการจำแนก *Karualona* แต่ละชนิดออกจากกันได้ โดยจากการตรวจสอบพบว่า ในประเทศไทยมี *Karualona* ที่ปรากฏอยู่ทั้งสิ้น 3 ชนิด คือ *Karualona iberica*, *Karualona karua* และ *Karualona* sp. ซึ่งเป็นชนิดที่คาดว่าจะชนิดใหม่ของโลก

คำสำคัญ: อนุกรมวิธาน, คลาโดเซอรา, *Karualona*, ประเทศไทย

Project Code : MRG5280030
Project Title : Morphological variation of *Karualona* found in Thailand
Investigator : Supiyanit Maiphae
E-mail Address : supiyanit.m@psu.ac.th
Project Period : March 2009–March 2011

Abstract

Detailed morphological characters of *Karualona* were investigated based on specimens collected from freshwater habitats throughout Thailand. The great variation in differences of the morphology was found in both external and internal characters. However, patterns of denticles at postero–ventral corner of valve and thoracic limb II are stable among populations of each species so that they can be considered as good taxonomic characters to separate them. In addition, it can be concluded that three *Karualona*; *Karualona iberica*, *Karualona karua* and *Karualona* sp., are valid in Thailand. Of which, the latter is proposed to be a new species.

Keywords: Taxonomy, Morphology, *Karualona*, Thailand

Executive Summary

The present study was aimed to perform a detailed morphological study of *Karualona* in Thailand, check the validity of species and propose the good taxonomic characters for identifying the species found in Thailand. The *Karualona* specimens were collected from freshwater habitats throughout Thailand. Detailed morphological characters were examined both external and internal parts, of which drawings and SEM were applied for studying fine characters. Morphological comparisons of different population were made so that the taxonomic status of the species level can be reviewed. The results showed high variation of a number of outer and inner characters. Characters that showed high variations are 1) shape 2) size 3) ratio of maximum width and maximum height 4) size of postero-ventral denticles on valves 5) number of postero-ventral denticles on valves 6) length of scrapers of P2 7) postanal portion and length of anal groove of postabdomen and 8) embayment at base terminal claw. Characters that show low variations are 1) keel of labrum 2) ES vs IS on ODL 3) seta 3 vs. seta 4 of P3 4) seta 4 vs. seta 5 of P3 5) seta 4 vs. seta 5 of P5 6) PP vs. IP on head 7) preanal angle and height of postanal angle 8) Setules of proximal comb on terminal claw of PA 9) width at postanal and preanal corners of postabdomen 10) lateral fascicles of postabdomen 11) subdistal spines of postabdomen 12) pattern of marginal setae of PA and 13) length of postabdomen. However denticles at postero-ventral corner of valve and characters of scrapers on thoracic limbs II are stable among population of each species so these two characters can be used to separate them. In addition, the results indicated that three *Karualona* species; *Karualona iberica*, *Karualona karua* and *Karualona* sp.; are valid in Thailand. Of which, the latter is proposed to be a new species.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	(1)
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	(2)
Executive summary	(3)
สารบัญ	(4)
สารบัญภาพ	(5)
สารบัญตาราง	(6)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีการศึกษา	3
บทที่ 3 ผลและวิเคราะห์ผลการศึกษา	8
บทที่ 4 สรุปผลการศึกษา	34
เอกสารอ้างอิง	36

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างและความยาวของลำตัวของตัวอย่าง จำนวน 277 ตัวอย่าง	8
ภาพที่ 3.2 แสดงอัตราส่วนระหว่างความกว้างและความยาวของลำตัวของตัวอย่าง จำนวน 277 ตัวอย่าง	9
ภาพที่ 3.3 รูปร่างของ <i>Karualona</i> ที่พบในประเทศไทย	10
ภาพที่ 3.4 แสดงลักษณะหนามที่ส่วนท้ายของลำตัว (postero-ventral corner of valve) ของตัวอย่าง <i>Karualona</i> ที่พบในประเทศไทย	11
ภาพที่ 3.5 แสดงลักษณะหนามบริเวณท้ายของลำตัว	12
ภาพที่ 3.6 แสดงลักษณะ postabdomen ของตัวอย่าง <i>Karualona</i> ที่พบในประเทศไทย	13
ภาพที่ 3.7 แสดงลักษณะ postabdomen ที่พบใน <i>Karualona</i> ชนิดต่าง ๆ	15
ภาพที่ 3.8 ลักษณะ scrapers ของขาคู่ที่ 2	16
ภาพที่ 3.9 <i>Karualona iberica</i> Dumont & Silva-Briano, 2000: ตัวเต็มวัยของเพศเมีย จากทะเลน้อย จ.พัทลุง	21
ภาพที่ 3.10 <i>Karualona iberica</i> Dumont & Silva-Briano, 2000: ulyangค้ของตัวเต็มวัย เพศเมีย จากทะเลน้อย จ.พัทลุง	22
ภาพที่ 3.11 <i>Karualona iberica</i> Dumont & Silva-Briano, 2000: ตัวเต็มวัยเพศเมียจาก ทะเลน้อย จ.พัทลุง	23
ภาพที่ 3.12 <i>Karualona</i> sp.: ตัวเต็มวัยเพศเมีย จากหนองน้ำเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี	30
ภาพที่ 3.13 <i>Karualona</i> sp.: ulyangค้ของตัวเต็มวัยเพศเมีย จากหนองน้ำเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี	31
ภาพที่ 3.14 <i>Karualona</i> sp.: ulyangค้ขาของตัวเต็มวัยเพศเมีย จากหนองน้ำเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี	32

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 ความแตกต่างระหว่างประชากร <i>K.iberica</i> , <i>Karualona karua</i> และ <i>Karualona</i> sp. ที่พบในประเทศไทย	17
ตารางที่ 3.2 การกระจายของ <i>Karualona</i> ที่พบในประเทศไทย	33

บทที่ 1 บทนำ

การศึกษาคลาโดเซอราที่ผ่านมาไม่ค่อยได้รับความสนใจมากนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธาน ทั้งนี้เป็นไปได้อาจเนื่องจากขนาดตัวที่มีขนาดเล็ก มีความแปรผันของลักษณะภายนอกสูง และคู่มือในการจำแนกชนิดก็ไม่มีมากนักและยังไม่ได้รับการเขียนบททบทวนใหม่ให้มันตามความรู้ใหม่ที่เกิดขึ้น เหล่านี้ล้วนส่งผลให้การศึกษาคลาโดเซอราในทุกแง่มุมเป็นไปได้ยาก (Korovchinsky, 1996) โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบว่าจำนวนงานวิจัยทางด้านอนุกรมวิธานโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีน้อยมากเมื่อเทียบกับงานวิจัยทางด้านนิเวศวิทยา พืชวิทยา การเพาะเลี้ยงและการศึกษาด้านชีวโมเลกุล

ความสับสนทางด้านอนุกรมวิธานของคลาโดเซอราเริ่มขึ้นจากแนวความคิดหรือข้อสรุปโดยทั่วไปที่ว่าคลาโดเซอราที่มีรูปร่างคล้ายกันเป็นชนิดเดียวกัน ดังนั้นจึงพบว่ามีคลาโดเซอราหลายชนิดมากที่มีรายงานการพบต่างทวีปกันแต่ให้ชื่อเดียวกัน ซึ่งต่อมาการศึกษาทบทวนพบว่าแตกต่างชนิดกัน (Frey, 1995) ปัญหาอีกประการหนึ่งคือคลาโดเซอราหลายกรุปมีความแปรผันของลักษณะทางสัณฐานวิทยาสูงมาก นอกจากนี้ความแปรผันของระยะตัวอ่อนและความแปรผันระหว่างประชากรรวมทั้งการเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างตามฤดูกาล (cyclomorphic changes) ล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้การศึกษานุกรมวิธานของคลาโดเซอราค่อนข้างซับซ้อน กระทั่งในปัจจุบันยังไม่สามารถระบุลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญของแต่ละกรุปได้ ดังนั้นนักวิจัยจึงต้องตรวจสอบลักษณะของอวัยวะทั้งหมดเพื่อป้องกันความผิดพลาดในการใช้เกณฑ์การจำแนกชนิดที่แตกต่างกัน ยิ่งไปกว่านั้นคำอธิบายลักษณะที่ไม่สมบูรณ์ยังทำให้การศึกษาทางอนุกรมวิธานในปัจจุบันต้องใช้เวลาค่อนข้างมาก จากเอกสารพบว่าคำอธิบายลักษณะฉบับแรกของคลาโดเซอราส่วนใหญ่จะไม่สมบูรณ์ โดยมักขาดรายละเอียดของลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีความสำคัญและมีประโยชน์ หรือขาดภาพประกอบที่จะสามารถใช้ในการเปรียบเทียบกับรายงานการวิจัยเรื่องอื่น ๆ ได้ จากปัญหาที่กล่าวมาข้างต้นส่งผลให้เกิดการระบุชนิดผิดพลาด จะเห็นได้ว่าการตรวจสอบความแปรผันของลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความสำคัญในการศึกษาเปรียบเทียบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษานุกรมวิธานของกลุ่มชนิดที่ยังเป็น species complex อย่างไรก็ตามการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของคลาโดเซอราที่มีการพัฒนาอย่างมากในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนแปลงในระดับชนิด ซึ่งเป็นที่ชัดเจนว่ามีคลาโดเซอราหลายชนิดที่ก่อนหน้านี้ถูกจัดเป็นชนิดเดียวกันแต่ได้รับการพิสูจน์ว่าเป็น species group ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกันมากแต่มีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน ในทางกลับกันบางชนิดก็ได้รับการพิสูจน์ว่าเป็นชนิดที่แท้จริง

Karualona เป็นอีกสกุลหนึ่งที่แยกออกมาจากสกุล *Alona* (Dumont & Silva-Briano, 2000) เนื่องจากมีความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง

รยางค์ขา ในปัจจุบันมีการรายงานการพบชนิดในสกุล *Karualona* ทั้งหมด 5 ชนิด คือ *K. alsafadii*, *K. socostrana*, *K. penuelasi*, *K. karua* และ *K. iberica* โดยในประเทศไทยมีรายงานการพบ 2 ชนิด คือ *K. karua* และ *K. iberica* อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาเบื้องต้น (Maiphae, 2005; Maiphae et al., 2008) พบว่าทั้งสองชนิดมีความแปรผันของลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลายลักษณะและขอบเขตของการแปรผันนั้นยังมีความเหลื่อมล้ำระหว่างสองชนิดนี้ด้วย

ดังนั้น คำถามของงานวิจัย คือ

- 1) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Karualona* ลักษณะใดบ้างที่มีความแปรผันและแปรผันอย่างไร
- 2) แท้จริงแล้วมี *Karualona* ปรากฏอยู่จริง (valid species) ในแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทยกี่ชนิด และเป็นชนิดใดบ้าง
- 3) ลักษณะใดเป็นลักษณะทางอนุกรมวิธานที่ดีที่สามารถใช้ในการจำแนก *Karualona* แต่ละชนิดออกจากกันได้

สมมติฐาน

- 1) หากประชากรมีความแปรผันของลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่สูงมาก และมีลักษณะที่สามารถแยกเป็นสองประชากรได้ชัดเจน ในประเทศไทยจึงน่าจะมี *Karualona* ปรากฏอยู่จริง 2 ชนิด
- 2) หากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของประชากรไม่แตกต่างกัน ในประเทศไทยจึงน่าจะมี *Karualona* ปรากฏอยู่เพียงชนิดเดียว
- 3) หากประชากรมีลักษณะที่แตกต่างจนสามารถแยกเป็นสองประชากรได้ชัดและมีลักษณะที่เหลื่อมล้ำกันมากพอจนสามารถแยกประชากรกลุ่มที่มีลักษณะที่เหลื่อมล้ำออกจากสองประชากรนั้นได้ ในประเทศไทยจึงน่าจะมี *Karualona* ปรากฏอยู่จริงอย่างน้อย 3 ชนิด

จุดประสงค์

- 1) เพื่อตรวจสอบความผันแปรของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคลาโดเซอราสกูล *Karualona* ที่พบในประเทศไทย
- 2) เพื่อตรวจสอบสถานะทางอนุกรมวิธานของคลาโดเซอราสกูล *Karualona* ที่พบในประเทศไทย
- 3) เพื่อเสนอลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมาะสม (good characters) ในการจำแนกชนิด *Karualona* ที่พบในประเทศไทย

บทที่ 2 วิธีการศึกษา

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ศึกษาตัวอย่าง *Karualona* จำนวนทั้งสิ้น ที่เก็บจากแหล่งน้ำจืดในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2541-2550 (Maiphae, 2005; Maiphae et al, 2008) เก็บตัวอย่างเชิงคุณภาพเพิ่มเติมโดยใช้ถุงพลาสติกขนาดตา 20 μm และ 60 μm รักษาสภาพตัวอย่างทันทีด้วยสารละลายฟอร์มาลินเข้มข้น 4% และแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% รายละเอียดสถานที่เก็บตัวอย่างดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สถานที่เก็บตัวอย่างคลาโดเซอราสกูล *Karualona*

ลำดับ	Code	แหล่งน้ำ	จังหวัด
1	K101-K110	หนองน้ำข้างทาง	พิษณุโลก
2	K201-K210	กว๊านพะเยา	พะเยา
3	K301-K310	บ้านลุง	สุโขทัย
4	K401-K410	บึงสามนาย	สุโขทัย
5	K501-K505	หนองหาน	อุดรธานี
6	K601-K610	บึงหนองคาย	หนองคาย
7	K701-K703	หนองแสง	หนองคาย
8	K801-K810	หนองสระคำ	หนองคาย
9	K901-K910	หนองน้ำ	หนองคาย
10	K1001-K1010	หนองงาม	หนองคาย
11	K1101	หนองประจักษ์	อุดรธานี
12	K1201-K1204	หนองน้ำ	อุดรธานี
13	K1301-K1310	หนองไยก	ขอนแก่น
14	K1401	หนองกรองแก้ว	ขอนแก่น
15	K1501-K1510	บึงกุดเค้า	ขอนแก่น
16	K1601-K1605	หนองน้ำแม่สวด	ตาก
17	K1701-K1706	บึงบัว	กาญจนบุรี
18	K1801-K1810	หนองน้ำสวนผึ้ง	ราชบุรี
19	K1901-K1910	หนองตะบาย	จันทบุรี
20	K2001-K2010	หนองน้ำดำ	ระยอง

ตารางที่ 2.1 สถานที่เก็บตัวอย่างคลาโดเซอราสกุล *Karualona* (ต่อ)

ลำดับ	Code	แหล่งน้ำ	จังหวัด
21	K2101-K2110	หนองปลาไหล	ระยอง
22	K2201-K2210	หนองดอกกราย	ระยอง
23	K2301-K2310	หนองน้ำ	อยุธยา
24	K2401-K2409	แอ่งน้ำข้างทาง	ปทุมธานี
25	K2501-K2506	แอ่งน้ำข้างทาง	ปทุมธานี
26	K2601-K2609	แอ่งน้ำข้างทาง	ปทุมธานี
27	K2701-K2710	หมื่นล้านรีสอร์ท	กระบี่
28	K2801-K2805	พรุกาแบ	นราธิวาส
29	K2901-K2910	พรุกาแบ	นราธิวาส
30	K3001-K3002	พรุกาแบ	นราธิวาส
31	K3101-K3110	พรุจุด	ภูเก็ต
32	K3201-K3210	พยุชน 1	ตรัง
33	K3301-K3310	พยุชน 2	ตรัง
34	K3401-K3410	หนองนาท่าม	ตรัง
35	K3501-K3502	ถ้ำสุมน 1	พัทลุง
36	K3601-K3602	ถ้ำสุมน 2	พัทลุง
37	K3701-K3710	ทะเลน้อย	พัทลุง
38	K3801-K3810	ทะเลน้อย	พัทลุง
39	K3901-K3910	ทะเลน้อย	พัทลุง
40	K4001-K4010	ทะเลน้อย	พัทลุง
41	K4101-K4105	ทะเลน้อย	พัทลุง
42	K4201-K4210	ทะเลน้อย	พัทลุง
43	K4301-K4310	เกาะพระทอง	พังงา
44	K4401-K4410	เกาะพระทอง	พังงา
45	K4501-K4510	บึงกุแบกตา	ปัตตานี
46	K4601-K4610	นาข้าว	นครศรีธรรมราช
47	K4701-K4710	นาข้าว	นครศรีธรรมราช
48	K4801-K4810	นาข้าว อ.นาหม่อม	สงขลา

ตารางที่ 2.1 สถานที่เก็บตัวอย่างคลาโดเซอราสกุล *Karualona* (ต่อ)

ลำดับ	Code	แหล่งน้ำ	จังหวัด
49	K4901-K4910	นาข้าว อ.ควนเนียง	สงขลา
50	K5001-K5010	นาข้าว อ.สทิงพระ	สงขลา
51	K5101-K5110	นาข้าว อ.บางกล่ำ	สงขลา
52	K5201-K5210	นาข้าว อ.รัตภูมิ	สงขลา
53	K5301-K5310	นาข้าว อ.จะนะ	สงขลา
54	K5401-K5410	หนองปลักพระยา	สตูล
55	K7001-K7010	หนองน้ำเขื่อนรัชชประภา	สุราษฎร์ธานี

2. การตรวจวัดปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม

ตรวจวัดปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมบริเวณที่เก็บตัวอย่าง คือ อุณหภูมิ น้ำ ความชื้น ความเป็นกรดต่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ และความเค็ม โดยใช้เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำที่ผ่านการเทียบเคียงค่ามาตรฐาน (calibrated water analysis checker) และบันทึกลักษณะทางกายภาพของแหล่งน้ำ เช่น ประเภทของแหล่งน้ำ การไหลของน้ำ การปกคลุมของพืชน้ำ เป็นต้น

3. การตรวจสอบตัวอย่าง

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

เลือกตัวอย่าง *Karualona* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสองตา (Olympus SZ-40) นำตัวอย่างมาเตรียมสไลด์เพื่อการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยหยดกลีเซอรินลงบนสไลด์ วางตัวอย่างที่เลือกและทำความสะอาดแล้วลงบนกลีเซอริน วางดินน้ำมันที่มุมทั้งสี่ด้านของแผ่นปิดสไลด์ก่อนปิดสไลด์เนื่องจากตัวอย่าง *Karualona* มีความหนา สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการตัดระยางค์ ให้ทำเตรียมสไลด์ในรูปแบบเดียวกัน แต่ไม่ต้องวางดินน้ำมันที่มุมของแผ่นปิดสไลด์

3.2 การศึกษาสัณฐานวิทยา

ศึกษาระยางค์ทั้งหมด คือ เปลือก (valve) แผ่นปิดส่วนหัว (head shield) หนวดคู่ที่ 1 (antennules) หนวดคู่ที่ 2 (antenna) แผ่นปิดส่วนปาก (Labrum) โปสแอบโดเมน (postabdomen) และระยางค์ขาทั้ง 5 คู่ (thoracic limbs 1-5) โดยตัดระยางค์ดังกล่าวด้วยเข็มปักแมลงเบอร์ 0 และ

เตรียมสไลด์ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น ศึกษารายละเอียดของระยางค์ต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบตาประกอบ (compound microscope)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้ในการศึกษา

- 1) รูปร่าง (shape)
- 2) ขนาด (size)
- 3) อัตราส่วนระหว่างความกว้างที่มากที่สุดและความสูงที่สูงที่สุด (ratio of maximum width and maximum height)
- 4) ขนาดของหนามบริเวณส่วนท้ายด้านล่างของเปลือก (size of postero-ventral denticles on valves)
- 5) จำนวนหนามบริเวณส่วนท้ายด้านล่างของเปลือก (number of postero-ventral denticles on valves)
- 6) สันบริเวณแผ่นปิดส่วนปาก (keel of labrum)
- 7) สัดส่วนระหว่าง External seta (ES) และ Internal seta (IS) บริเวณ Outer distal lobe ของขาคู่ที่ (ES vs IS on ODL)
- 8) ความยาวของ scraper บนขาคู่ที่ 2 (length of scrapers of P2)
- 9) ความยาวของ seta ที่ 3 เปรียบเทียบกับความยาวของ seta ที่ 4 บนขาคู่ที่ 3 (seta 3 vs. seta 4 of P3)
- 10) ความยาวของ seta ที่ 4 เปรียบเทียบกับความยาวของ seta ที่ 5 บนขาคู่ที่ 3 (seta 4 vs. seta 5 of P3)
- 11) ความยาวของ seta ที่ 4 เปรียบเทียบกับความยาวของ seta ที่ 5 บนขาคู่ที่ 5 (seta 4 vs. seta 5 of P5)
- 12) ระยะระหว่าง PP และ IP บนหัว (PP vs. IP on head)
- 13) ความยาวของส่วน postanal และ anal ของ postabdomen (postanal portion and length of anal groove of postabdomen)
- 14) มุมบริเวณ preanal และความสูงบริเวณ postanal (preanal angle and height of postanal angle)
- 15) ขนบริเวณ terminal claw ของ postabdomen (Setules of proximal comb on terminal claw of PA)
- 16) รอยโค้งบริเวณฐานของ terminal claw (embayment at base terminal claw)
- 17) ความกว้างของ postanal และ preanal ของ postabdomen (width at postanal and preanal corners of postabdomen)

- 18) เส้นขนบริเวณด้านข้างของ postabdomen (lateral fascicles of postabdomen)
- 19) Spine บริเวณส่วนปลายของ postabdomen (subdistal spines of postabdomen)
- 20) รูปแบบของเส้นขนบริเวณขอบขอบ postabdomen (pattern of marginal setae of PA)
- 21) ความยาวของ postabdomen (length of postabdomen)

3.3 การวาดภาพ

วาดภาพพระยางค์ต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบตาประกอบที่ต่อกับอุปกรณ์ช่วยในการวาดภาพ (camera lucida)

3.4 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

เตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (scanning electron microscope) โดย นำตัวอย่างที่ผ่านการทำความสะอาดแล้วมาผ่านขั้นตอนการนำน้ำออก (dehydration) โดยผ่านตัวอย่างในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นเรียงจากน้อยไปมาก คือ 10%, 30%, 50%, 70%, 90%, 95%, 96% และ 100% ในแต่ละความเข้มข้นใช้เวลาแช่ตัวอย่าง 30 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างเข้าสู่กระบวนการ Critical Point Drying (CPD process) นำตัวอย่างวางบน stubs ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร และโคทด้วยทอง ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนรุ่น JSM-5800LV (JEOL) to show details.

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความเหมือนและความแตกต่างของ *Karualona* จากประชากรต่างๆ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา 21 ลักษณะ

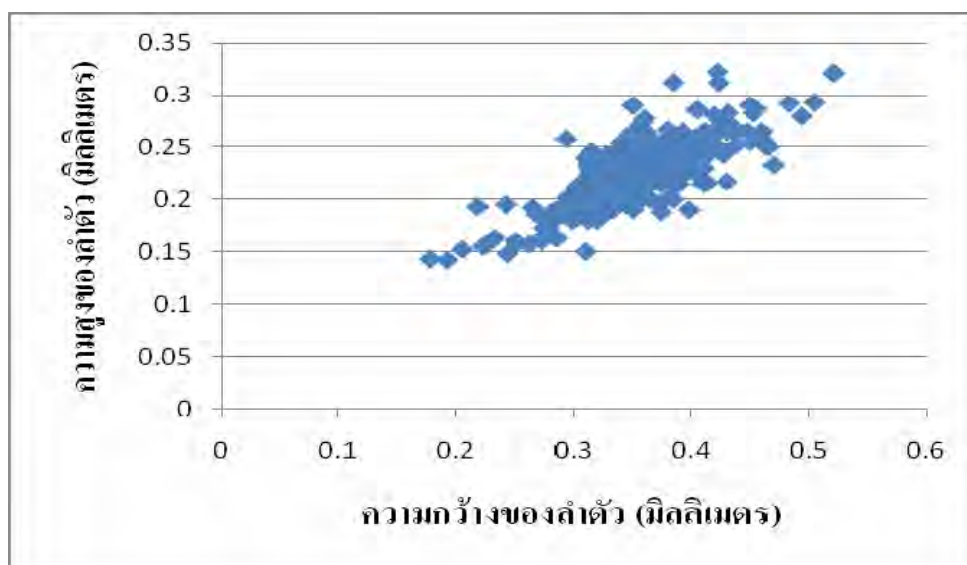
บทที่ 3 ผลการศึกษาและวิเคราะห์ผลการศึกษา

1. ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

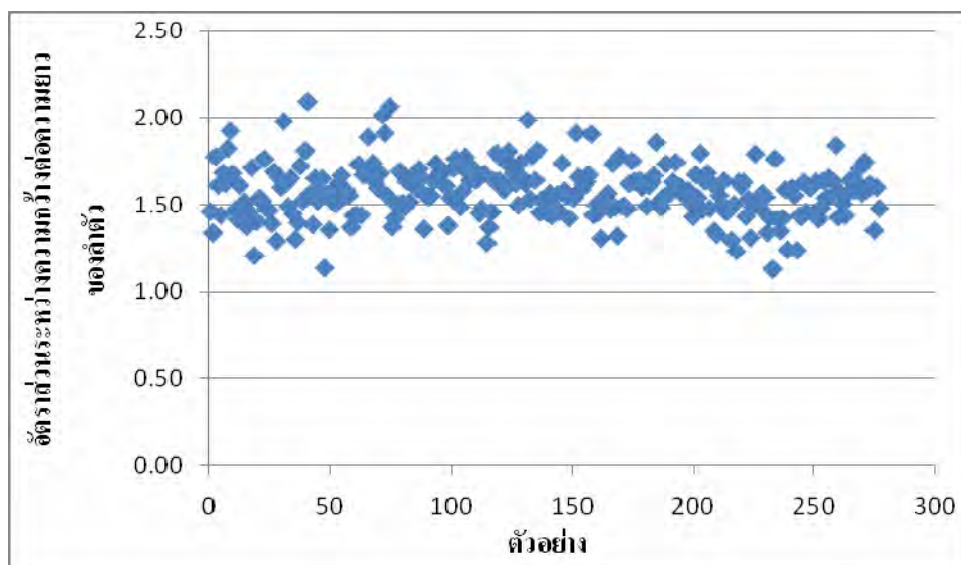
จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกดังกล่าวข้างต้น พบว่า ลักษณะภายนอก คือ ขนาด และสัดส่วนความกว้างและความยาวของลำตัว ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างประชากร มีรายละเอียดของลักษณะที่ศึกษาดังนี้

1.1 ความกว้าง (width) ความยาว (length) และสัดส่วนความกว้างและความยาวของลำตัว (W:L ratio)

ผลการศึกษาความกว้าง ความยาว และสัดส่วนความกว้างและความยาวของลำตัว ของตัวอย่างจำนวนทั้งสิ้น 277 ตัวอย่าง พบว่า *Karualona* มีความกว้างและความยาวของลำตัวอยู่ในช่วงที่ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน (ภาพที่ 3.1) โดยตัวอย่างส่วนใหญ่ (95%) มีอัตราส่วนความกว้างต่อความยาวของลำตัวประมาณ 1:1.5 ถึง 1:1.6 และมีตัวอย่างเพียงประมาณ 5% ที่มีอัตราส่วนความกว้างต่อความยาวของลำตัวต่ำกว่า คือ 1:1.3 และสูงกว่า คือ 1: 2.0 (ภาพที่ 3.2) แสดงให้เห็นว่า ขนาดและสัดส่วนของลำตัวไม่มีความแตกต่างกันในประชากรและระหว่างประชากร ซึ่งมีความผันแปรในช่วงแคบ คือ 1:1.3 ถึง 1:20



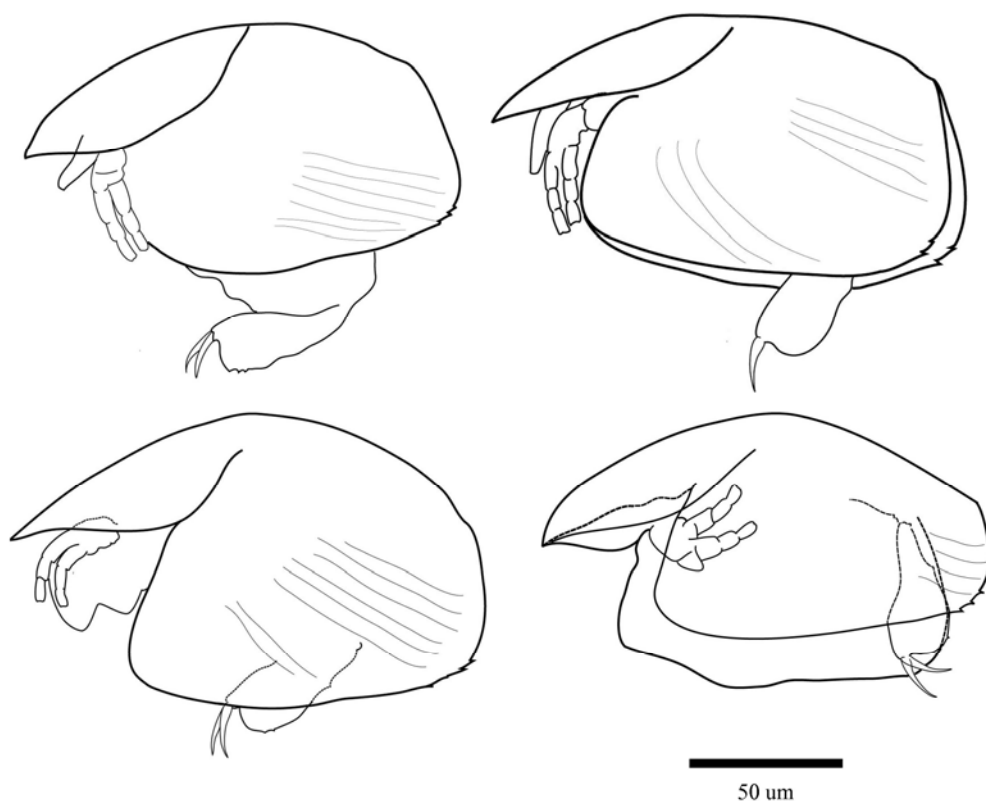
ภาพที่ 3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างและความยาวของลำตัวของตัวอย่างจำนวน 277 ตัวอย่าง



ภาพที่ 3.2 แสดงอัตราส่วนระหว่างความกว้างและความยาวของลำตัวของตัวอย่างจำนวน 277 ตัวอย่าง

1.2 รูปร่าง (Shape)

ผลการศึกษารูปร่างของตัวอย่าง *Karualona* พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดมีรูปร่างเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า (ภาพที่ 3.3) โดยรูปร่างไม่มีความแตกต่างกันในประชากรและระหว่างประชากร แสดงให้เห็นว่า รูปร่างเป็นลักษณะที่มีความผันแปรต่ำ อย่างไรก็ตามเนื่องจากเป็นลักษณะที่ไม่มีความแตกต่างระหว่างประชากร จึงไม่สามารถใช้เป็นลักษณะที่แยกความแตกต่างระหว่าง *Karualona* แต่ละชนิดได้



ภาพที่ 3.3 รูปร่างของ *Karualona* ที่พบในประเทศไทย

1.3 ลักษณะหนามที่ส่วนท้ายของลำตัว (postero-ventral corner of valve)

ผลการศึกษาลักษณะหนามที่ส่วนท้ายของลำตัว (postero-ventral corner of valve) พบว่ามีความหลากหลายของจำนวน รูปแบบการเรียงตัว ขนาด และลักษณะของหนามที่ปรากฏสูงทั้งในประชากรและระหว่างประชากร (ภาพที่ 3.4) โดย

1.1 จำนวนหนาม พบตั้งแต่ 2-4 อัน

1.2 การเรียงตัว พบ

1) เรียงห่างกัน โดยปรากฏการเรียงตัวของเส้นขน 4-5 เส้นระหว่างหนามแต่ละอัน

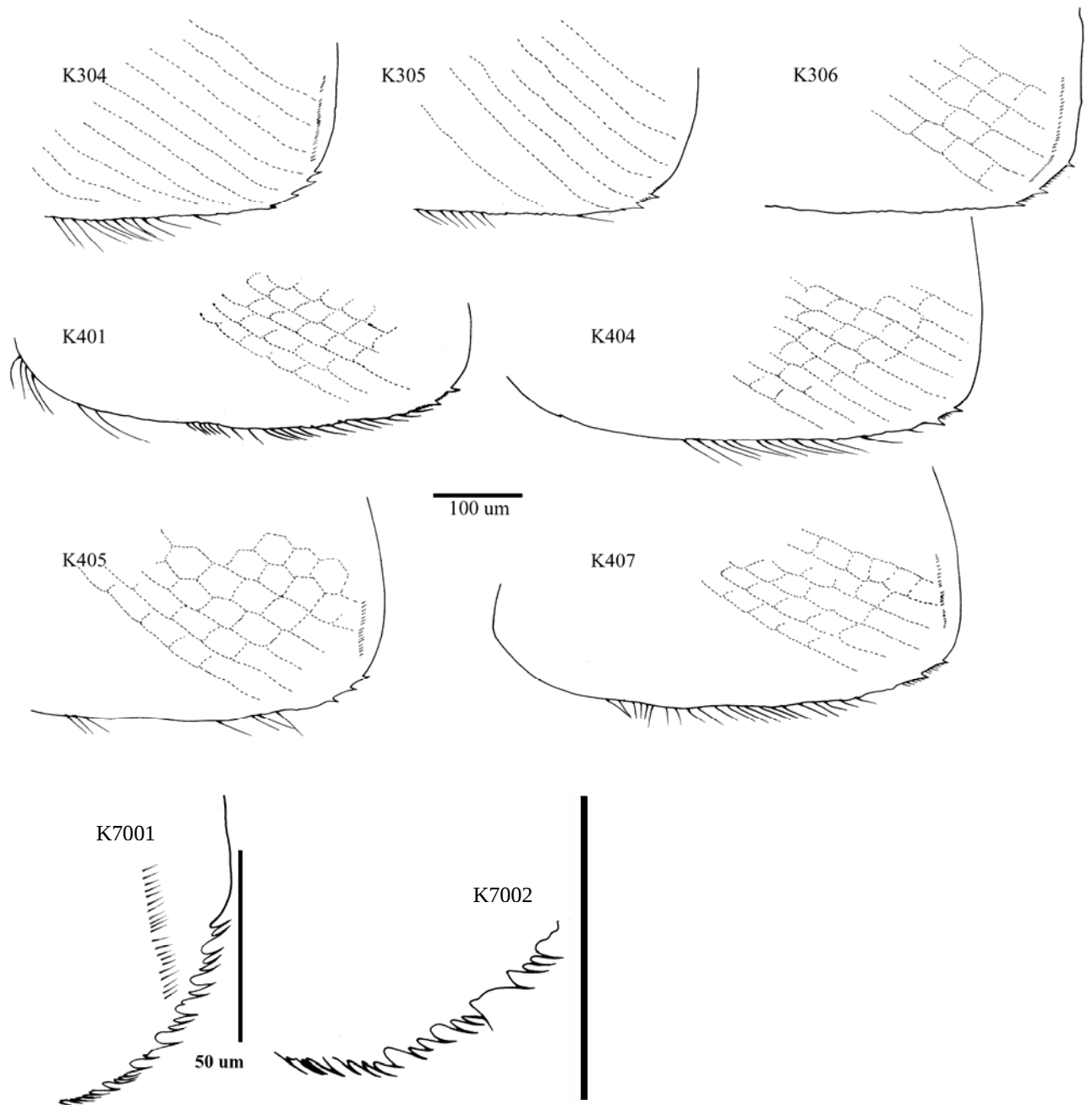
2) เรียงต่อกัน โดยปรากฏการเรียงตัวของเส้นขน 4-5 เส้น บริเวณโคนหนามแต่ละอัน

1.3 ขนาด พบทั้งหนามขนาดเล็ก (K306) และหนามขนาดใหญ่ (K404)

1.4 ลักษณะหนาม พบ

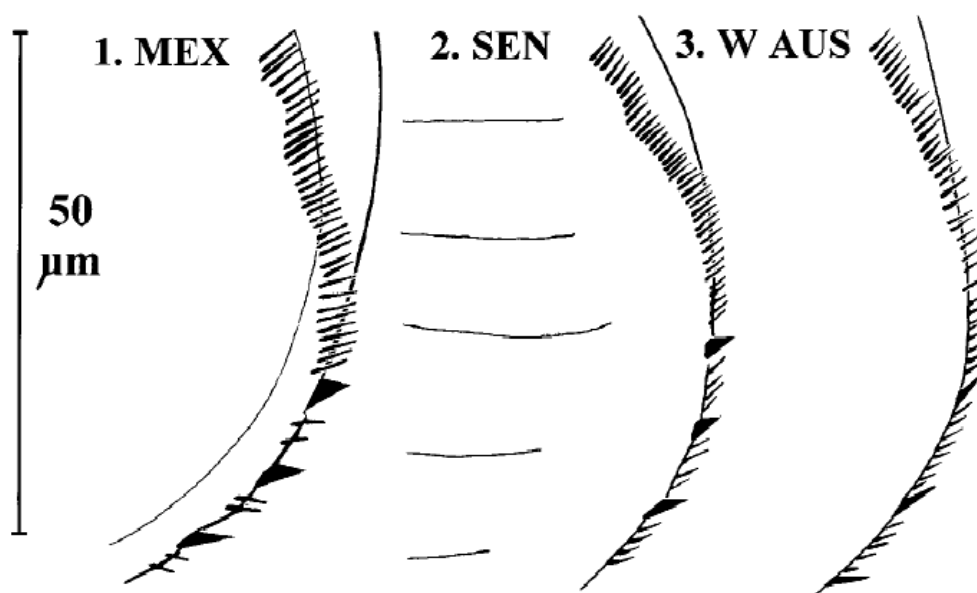
1) ลักษณะเรียวแหลม (K405)

2) ลักษณะมน (K304)



ภาพที่ 3.4 แสดงลักษณะหนามที่ส่วนท้ายของลำตัว (postero-ventral corner of valve) ของตัวอย่าง *Karualona* ที่พบในประเทศไทย

ซึ่งลักษณะของหนามที่ปรากฏบริเวณท้ายของลำตัวนี้เป็นลักษณะสำคัญลักษณะหนึ่งที่ใช้ในปัจจุบันใช้ในการจำแนกชนิดของ *Karualona* (Dumont & Silva-Briano, 2000) จึงได้นำลักษณะที่พบเปรียบเทียบกับลักษณะเฉพาะของแต่ละชนิดที่ Dumont & Silva-Briano (2000) ได้รายงานไว้ (ภาพที่ 3.5) จะเห็นได้ว่าตัวอย่าง *Karualona* ในประเทศไทย มีลักษณะหนามบริเวณท้ายของลำตัวสอดคล้องกับลักษณะหนามของ *Karualona* 2 ชนิด คือ *Karualona karua* และ *Karualona iberica* และมีตัวอย่าง *Karualona* บางประชากรที่มีลักษณะหนามบริเวณท้ายลำตัวแตกต่างไปจากตัวอย่างที่มีรายงานมาก่อนในโลก (K7001 และ K7002)



ภาพที่ 3.5 แสดงลักษณะหนามบริเวณท้ายของลำตัว ของ 1. *Karualona pennuelasi* จากประเทศเม็กซิโก 2. *Karualona karua* จากประเทศซีเนกอล และ 3. *Karualona iberica* จากประเทศออสเตรเลีย (Dumont & Silva-Briano, 2000)

1.4 ลักษณะ postabdomen (ภาพที่ 3.6)

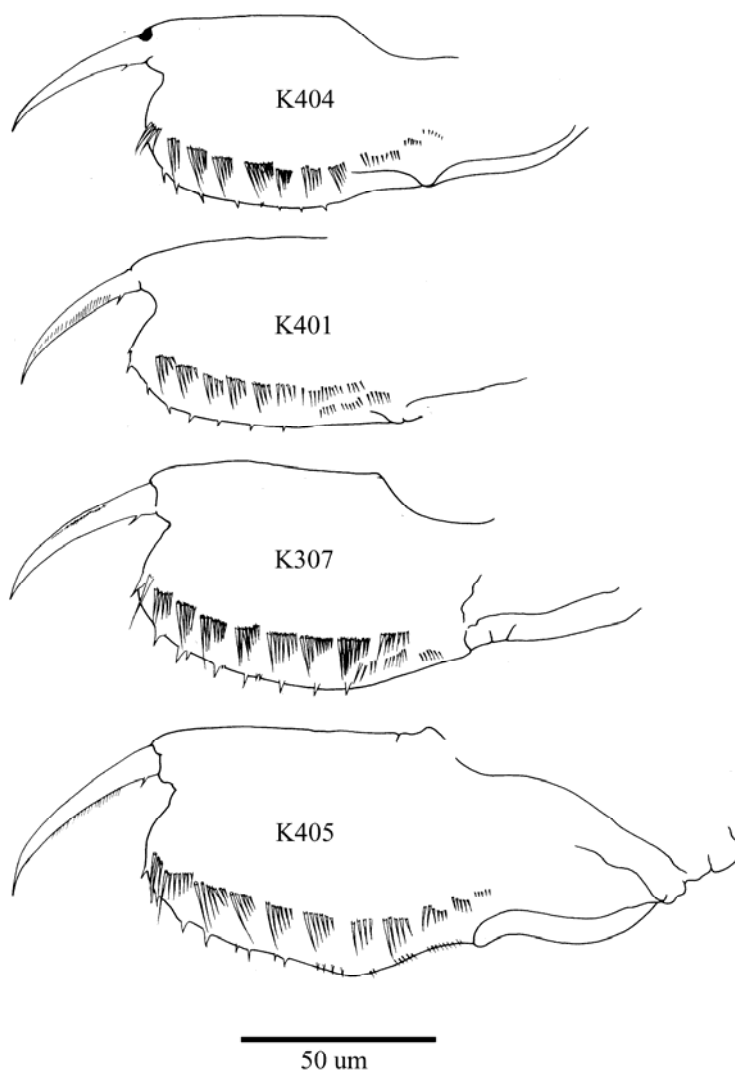
ผลการศึกษาลักษณะ postabdomen ของตัวอย่าง *Karualona* ที่พบในประเทศไทย พบว่า มีความหลากหลายและแปรผันของ

- 1) รูปร่างของ postanal margin ซึ่งมีทั้งโค้งมน (K401) และมีร่องหยัก (K307, K404, K405)

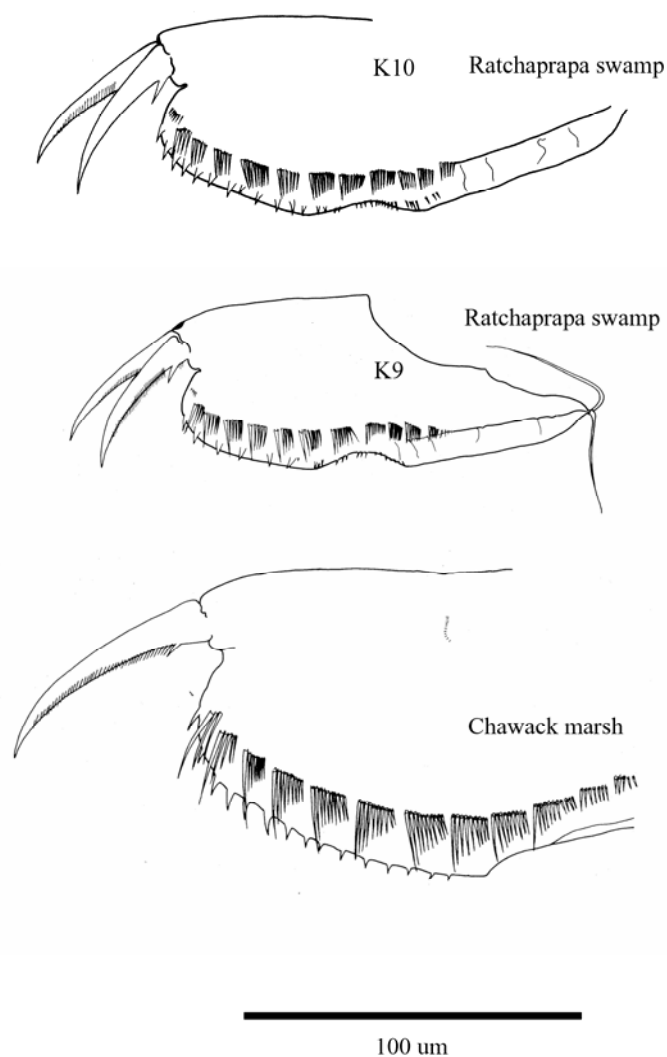
2) ลัดส่วนระหว่าง preanal และ postanal margin ซึ่งบางตัวอย่าง preanal margin ยาวกว่า postanal margin (K307, K404, K405) และบางตัวอย่าง preanal margin สั้นกว่า postanal margin (K401)

3) ลักษณะตรงรอยต่อระหว่าง terminal claw กับ postabdomen ซึ่งมีหลากหลายลักษณะ เช่น โค้งมน เป็นรอยปุ่ม เป็นหยัก เป็นรูปสี่เหลี่ยม และ

4) denticles ซึ่งมีความหลากหลายของจำนวน และขนาด เป็นต้น



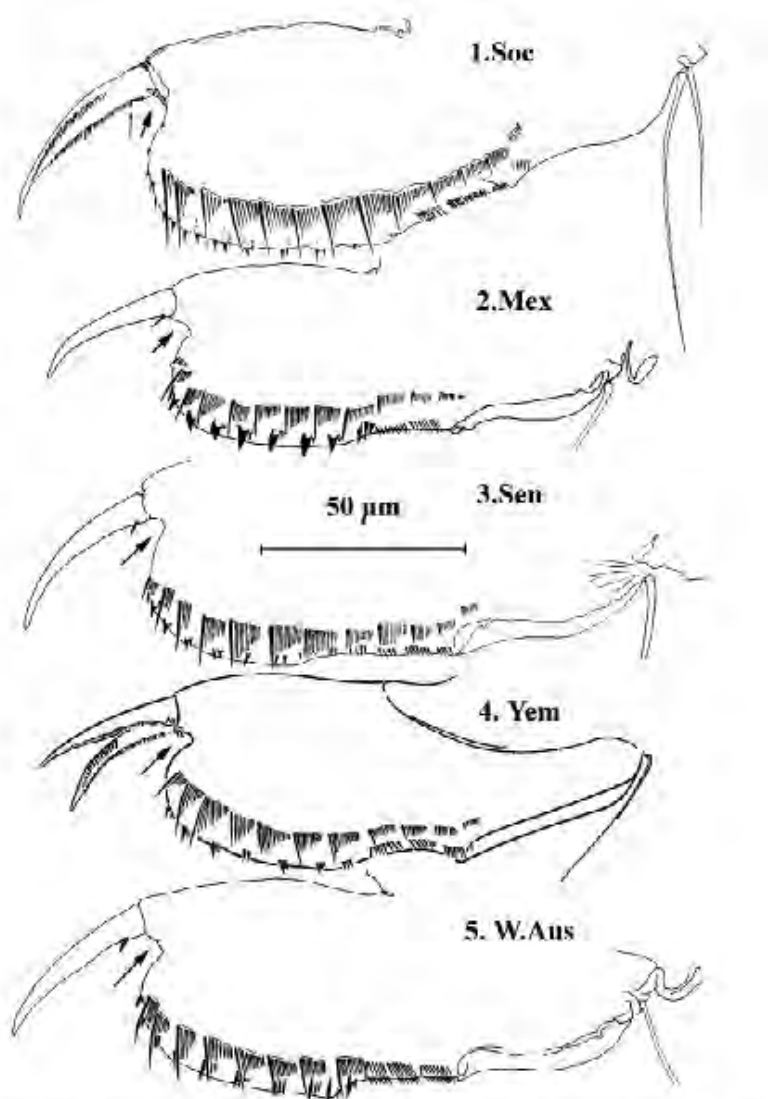
ภาพที่ 3.6 แสดงลักษณะ postabdomen ของตัวอย่าง *Karualona* ที่พบในประเทศไทย



ภาพที่ 3.6 แสดงลักษณะ postabdomen ของตัวอย่าง *Karualona* ที่พบในประเทศไทย (ต่อ)

ซึ่งลักษณะ postabdomen ที่กล่าวมานี้เป็นลักษณะสำคัญลักษณะหนึ่งที่ใช้ในการจำแนกชนิดของ *Karualona* (Dumont & Silva-Briano, 2000) จึงได้นำลักษณะที่พบเปรียบเทียบกับลักษณะเฉพาะของแต่ละชนิดที่ Dumont & Silva-Briano (2000) ได้รายงานไว้ (ภาพที่ 3.7) จะเห็นได้ว่าตัวอย่าง *Karualona* ในประเทศไทย มีลักษณะ postabdomen สอดคล้องกับลักษณะ postabdomen ของ *Karualona* แทบทุกชนิด โดยอาจมีความสอดคล้องกับแต่ละชนิดในลักษณะย่อยที่แตกต่างกันออกไป คือ

- 1) รูปร่างของ postanal margin พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกับทุกชนิดที่มีรายงาน
- 2) สัดส่วนระหว่าง preanal และ postanal margin พบว่ามีตัวอย่างที่มีความคล้ายคลึงกับทุกชนิด
- 3) ลักษณะตรงรอยต่อระหว่าง terminal claw กับ psotabdomen ซึ่งมีหลากหลายลักษณะ เช่น โค้งมน เป็นรอยปุ่ม เป็นหยัก เป็นรูปสี่เหลี่ยม ซึ่งพบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกับ *Karualona iberica* และ *Karualona karua*

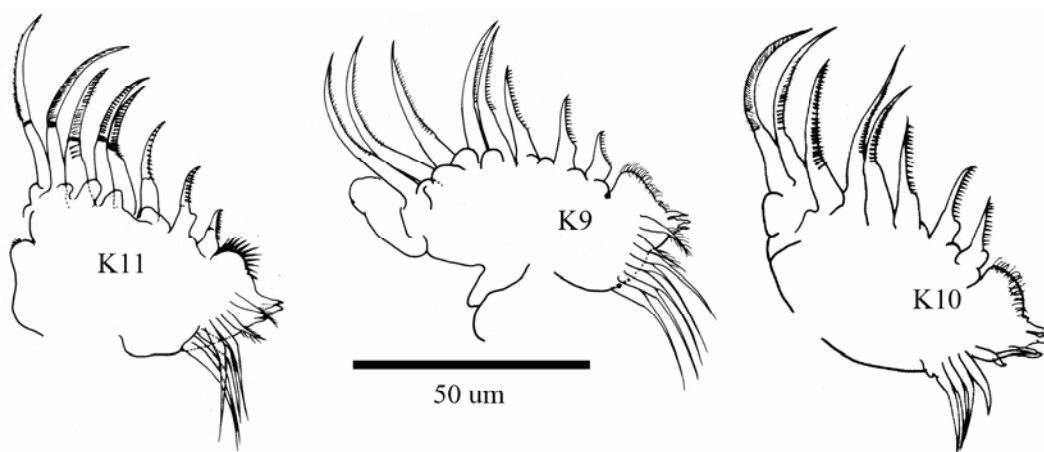


ภาพที่ 3.7 แสดงลักษณะ postabdomen ที่พบใน *Karualona* ชนิดต่าง ๆ 1. *Karualona socotrana*
 2. *Karualona penuelasi* 3. *Karualona iberica* 4. *Karualona alsafadii* และ
 5. *Karualona karua* (Dumont and Silva-Briano, 2000)

1.5 ลักษณะ scrapers ของขาคู่ที่ 2 (scrapers on P2) (ภาพที่ 3.8)

ลักษณะ scrapers ของขาคู่ที่ 2 มีความแตกต่างกัน 3 แบบ คือ

- 1) ตัวอย่าง *Karualona* ที่มี scraper 1 สั้นกว่า scraper 2
- 2) ตัวอย่าง *Karualona* ที่มี scraper 1 ยาวใกล้เคียงกับ scraper 2
- 3) ตัวอย่าง *Karualona* ที่มี scraper 1 ยาวกว่า scraper 2



ภาพที่ 3.8 ลักษณะ scrapers ของขาคู่ที่ 2

จะเห็นว่า *Karualona* ที่พบในประเทศไทยมีลักษณะที่มีความผันแปรหลายลักษณะ ที่สำคัญ คือ หนามด้านท้ายบริเวณลำตัว และลักษณะของ postabdomen ซึ่งพบว่าการผันแปรสูงทั้งในประชากรและระหว่างประชากร และปรากฏลักษณะที่มีความเหมือนกันระหว่าง *Karualona* 2 ชนิด หรือมากกว่า

2. วิเคราะห์ชนิด *Karualona* ที่ปรากฏในประเทศไทย

จากการศึกษาลักษณะทั้งหมด สามารถระบุชนิด *Karualona* ที่พบในประเทศไทยได้ทั้งสิ้น 3 ชนิด คือ *Karualona iberica*, *Karualona karua* และ *Karualona* sp. โดยมีลักษณะที่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างสามชนิด ดังนี้

ตารางที่ 3.1 ความแตกต่างระหว่างประชากร *K.iberica*, *Karualona karua* และ *Karualona* sp. ที่พบในประเทศไทย

ลักษณะ/ชนิด	<i>K. iberica</i>	<i>K. karua</i>	<i>Karualona</i> sp.
1. ลักษณะหนามที่ส่วนท้ายของลำตัว (postero-ventral corner of valve)	หนามเรียงตัวห่างกัน มีเส้นขนเล็กๆ ระหว่างหนามแต่ละอัน	หนามเรียงตัวห่างกัน มีเส้นขนเล็กๆ ระหว่างหนามแต่ละอัน	หนามเรียงตัวชิดกัน เป็นหยักคล้ายกงจักร
2. ขาคู่ที่ 2	Scraper 1 สั้นกว่าหรือยาวพอๆ กับ scraper 2	Scraper 2 สั้นกว่า scraper 1	Scraper 1 สั้นกว่าหรือยาวพอๆ กับ scraper 2

รูปวิธานในการจำแนกชนิด *Karualona* ในประเทศไทย

1. หนามเรียงตัวชิดกัน เป็นหยักคล้ายกงจักร.....*Karualona* sp.
หนามเรียงตัวห่างกัน มีเส้นขนเล็กๆ ระหว่างหนามแต่ละอัน.....2
2. Scraper 1 ของขาคู่ที่ 2 สั้นกว่าหรือยาวพอๆ กับ scraper 2.....*Karualona iberica*
Scraper 2 ของขาคู่ที่ 2 สั้นกว่า scraper 1.....*Karualona karua*

3. คำอธิบายลักษณะของ *Karualona* ที่พบในประเทศไทย

1. *Karualona iberica* Alonso & Pretus, 1989

Materials examined:

Southern Thailand: two parthenogenetic females, examined complete and thereafter dissected, from Thungtong swamp, Keinsa District, Suratthani Province (8° 52.66'N, 99°11.83'E), southeastern Thailand, temperature 29°C, pH 6.4, conductivity 0.39 and salinity 0 ppt., collected date 01-10-1999, collected by the author, SM.

Northeastern Thailand: five parthenogenetic females, examined complete and thereafter dissected, from Boak swamp, Khon Kean Province, northeastern Thailand, collected by the author, SM

Central Thailand: two parthenogenetic females, examined complete and thereafter dissected, from Chawak marsh, Supanburi Province, central Thailand, collected by the author, SM.

The details of morphological study

Species description (see figures 3.9–3.11)

Parthenogenetic female

General shape (figs.3.9a–c, 3.11a–d): sub-rectangular in lateral view, maximum height at $\square$ of body. Length 0.32–0.35 mm, about 1.2–1.4 times maximal height (n=9). Dorsal margin forms curve. Postero-dorsal and postero-ventral angles almost round or forming a small hillock. Posterior margin slightly concave, postero-ventral corner broadly rounded, with 2–3 denticles but mostly three. Antero-ventral corner rounded. Ventral margin almost straight, anteriormost with about 10 marginal setae followed by 20–25 slender setae, gradually decreasing in length toward posterior end. Posteriorventral margin with row of small setules. Valve ornamentation reticulation.

Head (figs.3.9a,d, 3.11a–b, f): Relatively small. Rostrum short, pointing downward. Compound eye present, larger than ocellus, distance between eye and ocellus shorter than distance from tip of rostrum to ocellus. Posterior margin of head shield angulated. Two connected major head pores, of same size, with a narrow connection between them (fig.3.9d, 3.11f).

Labrum (figs.3.9e, 3.11e): large, with a rounded or polygon-like anterior, lateral indentation large (fig.3.9e).

Postabdomen (fig.3.9h): wide about 2.2 times as long as high, distal part about 1.5 times longer than preanal portion. Proximal portion with almost parallel dorsal and ventral margin round, gradually narrowing distally. Anal margin slightly concave, with distinct pre- and postanal corner. Lateral fascicles: 12–13 postanal groups, each consisting of 3–12 denticles. Marginal denticles: 15–16 groups of single spinule, gradually increasing in size distally.

Terminal claw (fig.3.9h): Equal in length to preanal portion. Basal spine short, as $1/8$ of the claw, row of small setules from the base of basal spine to distal end.

First antenna (antennule) (figs.3.9a, f): short, not reaching tip of rostrum. Body compact, rod-like, about twice as long as wide, three rows of small spines on inner and outer side of body.

Second antenna (figs.3.9a,g): long (fig.3.9a), antenna formula, setae 0-0-3/0-1-3, spine 1-0-1/0-0-1. All setae bisegmented, seta arising from the basal of second segment of exopodite with a spinule at the point of segment articulation. Spine of basal segment of endopodite as half length as its segment. Terminal spines shorter than terminal segment of exopodite.

Trunk limb: six pairs

First trunk limb (P1) (fig.3.10a): Outer distal lobe (ODL) with one seta, slender and bearing long well-spaced setules. Row of small spines present at the base of ODL. Inner distal lobe (IDL) with three setae (I-III), seta I and II equal in length, the same length as ODL seta, second segment unilaterally armed with long well-spaced setules, seta III short as 1/3 of seta I-II. Endite 3 (E3) with four plumose setae (1-4) subequal in length, armed with short setules distally. Endite 2 (E2) bearing three apical setae (5-7), of which seta 6 the longest, all setulated. Endite 1 (E1) with two apical setae (8-9), as the same length, seta 8 unilaterally with fine setules, seta 9 armed with long setules basally and shorter distally. Groups of slender spinules present more radial on inner side of endite 2. Trunk with 5-6 rows of slender spines laterally. Basally two long and slender ejector hooks, subequal in length, unilaterally armed with short setules. Epipodite and gnathobase not seen.

Second trunk limb (P2) (figs.3.10b-c): Epipodite not seen. Exopodite (EX) round-elongated, small setules apically. Endopodite (EN) triangular, with eight scrapers (1-8), generally decreasing in length towards gnathobase though scraper 3 shorter than scraper 4, all scrapers bisegmented, similar unilaterally armed with fine setules distally, though scrapers 3 and 5 armed with more strong setules, one small sensillum (sn) between base of scraper 1 and 2. Distal armature of gnathobase (GT) with two elements (I-II), naked.

Third trunk limb (P3) (fig.3.10d): Epipodite not seen. Exopodite (EX) globular, bearing seven setae (1–7): seta 1 and 2 located laterally, in typical V-formation, seta 1 longer than seta 2, both bilaterally setulated, seta 4 slender and longest, bilaterally setulated, setae 5 and 6 similar in length, as 1/3 of the longest, similar armed with bilaterally setulated, seta 7 about half of seta 6.

Endopodite (EN) divided to two rows; anterior row, setae 1 and 2 stout, as the same length, distally armed with short well-spaced setules, setae 3–5 more slender, bilaterally setulated distally, one rod-like seta, naked; posterior row with five setae, similar in length and all bilaterally setulated. Gnathobase (GT) with three elements (I–III), element I long, curved inwards, unilaterally setulated, element II and III shorter, naked, fused at the base of each other. Gnathobasic filter comb with six (?) setae.

Fourth trunk limb (P4) (fig.3.10e): Epipodite not studied. Exopodite (EX) round, bearing six setae (1–6) with generally gradual increasing in length anteriorly though seta 3 longest, as 6–7 times of the seta 6, the shortest, all slender, bilaterally setulated with long setules.

Fifth trunk limb (P5) (fig.3.10f): Pre-epipodite (PEP) and Epipodite (EP) rounded, setulated apically. Exopodite (EX) clearly bilobed, bearing four apical setae (1–4); anterior portion smaller than posterior portion, setae 1–3 on anterior portion, seta 2 longest, setae 1 and seta 3 gradually smaller, respectively, all setulated; posterior portion larger, more round, bearing one seta (seta 4), length as 1/3 of the longest.

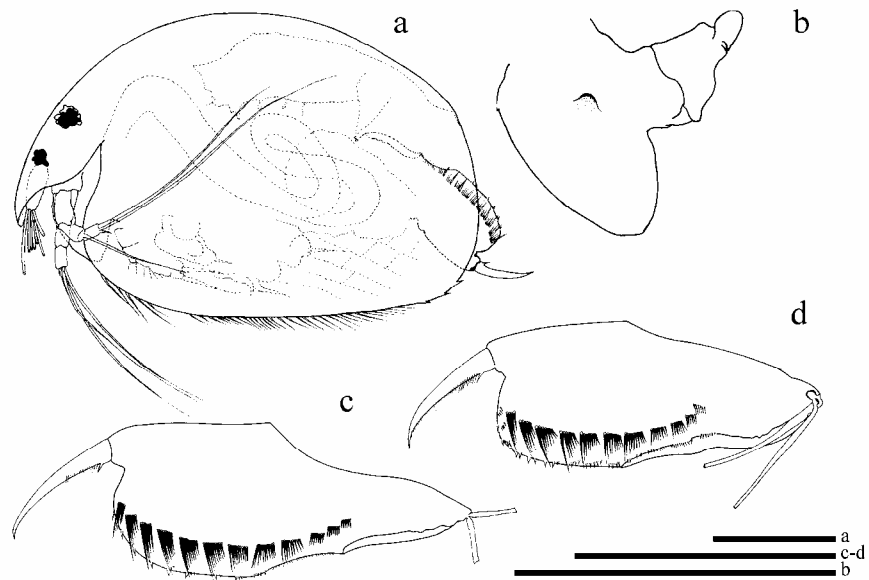
Endopodite (EN) larger, more ovoid, setulated apically, two endopodite setae setulated distally, one as 2/3 of another.

Differential diagnosis:

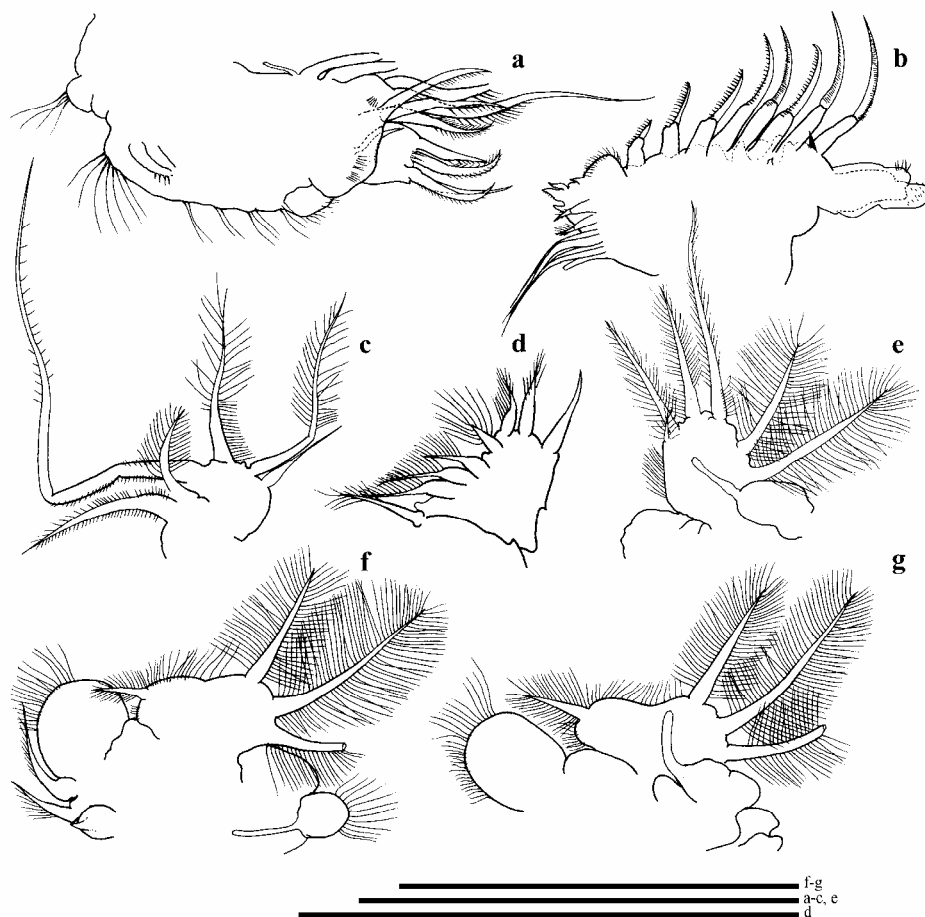
This species can be distinguished by its postero-ventral corner of valve forming 2–3 denticles or may be up to 4 in some specimens, including its relatively minute basal spine.

Distribution:

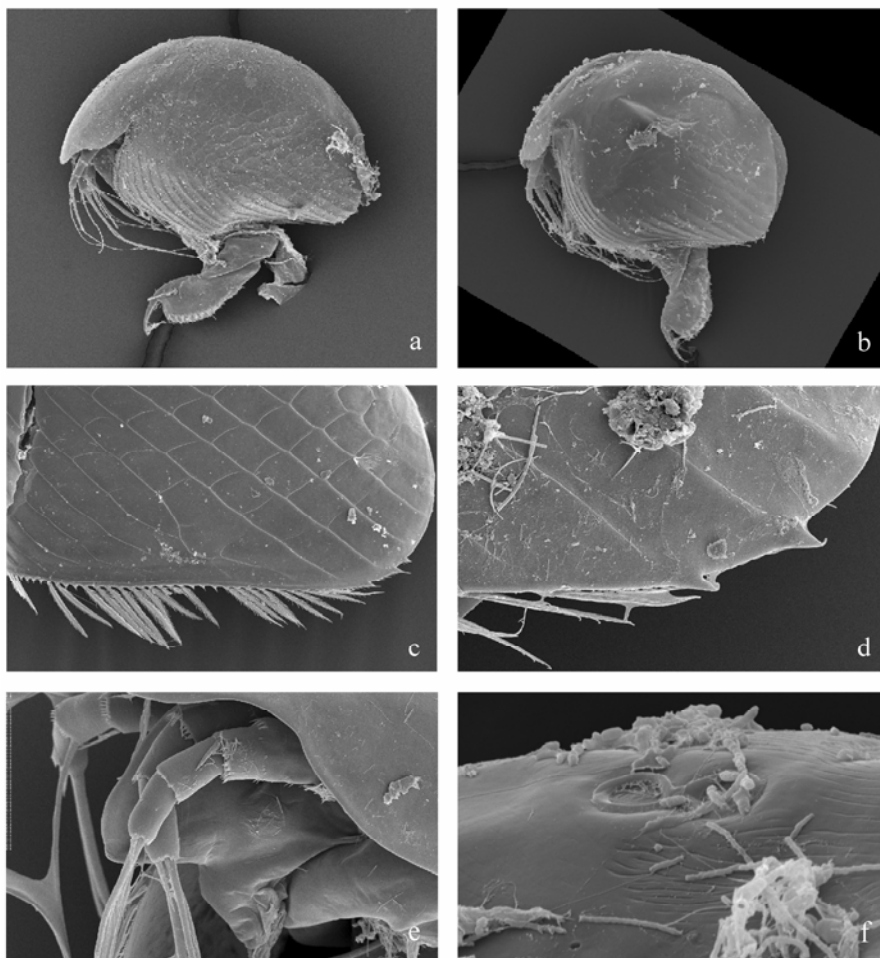
Tropical regions. It has been recorded throughout Thailand (Maiphae et al., 2005; 2008)



ภาพที่ 3.9 *Karualona iberica* Dumont & Silva-Briano, 2000: ตัวเต็มวัยของเพศเมียจากทะเล
-น้อย จ.พัทลุง ภาพ a, ด้านข้าง ภาพ b, labrum, ภาพ c-d, postabdomen สเกลบาร์ =
100 ไมโครเมตร



ภาพที่ 3.10 *Karualona iberica* Dumont & Silva-Briano, 2000: รางค์ของตัวเต็มวัยเพศเมีย จากทะเลน้อย จ.พัทลุง ภาพ a, ขาคู่ที่ 1 ภาพ b, ขาคู่ที่ 2, ภาพ c-d, ขาคู่ที่ 3, ภาพ e, ขาคู่ที่ 4, ภาพ f-g, ขาคู่ที่ 5 สเกลบาร์ = 100 ไมโครเมตร



ภาพที่ 3.11 *Karualona iberica* Dumont & Silva-Briano, 2000: ตัวเต็มวัยเพศเมียจากทะเลน้อย จ.พัทลุง ภาพ a-b, ภาพด้านข้างของตัวเต็มวัย ภาพ c-d, หนามบริเวณด้านท้ายของ ลำตัว, ภาพ e, labrum, ภาพ f, headpores สเกลบาร์ = 100 ไมโครเมตร

2. *Karualona karua*

Materials examined:

Southern Thailand: two parthenogenetic females, examined complete and thereafter dissected, from ricefield, Cheinyai District, Nakhonsithammarat Province, southeastern Thailand, collected date 10-2008, collected by Pussadee Choikaew.

The details of morphological study

Species description

Parthenogenetic female

General shape: sub-rectangular in lateral view, maximum height at $\square$ of body. Length 0.32–0.35 mm, about 1.2–1.4 times maximal height (n=9). Dorsal margin forms curve. Postero-dorsal and postero-ventral angles almost round or forming a small hillock. Posterior margin slightly concave, postero-ventral corner broadly rounded, with 2–3 denticles but mostly three. Antero-ventral corner rounded. Ventral margin almost straight, anteriormost with about 10 marginal setae followed by 20–25 slender setae, gradually decreasing in length toward posterior end. Posteriorventral margin with row of small setules. Valve ornamentation reticulation.

Head: Relatively small. Rostrum short, pointing downward. Compound eye present, larger than ocellus, distance between eye and ocellus shorter than distance from tip of rostrum to ocellus. Posterior margin of head shield angulated. Two connected major head pores, of same size, with a narrow connection between them.

Labrum: large, with a rounded or polygon-like anterior, lateral indentation large.

Postabdomen: wide about 2.2 times as long as high, distal part about 1.5 times longer than preanal portion. Proximal portion with almost parallel dorsal and ventral margin round, gradually narrowing distally. Anal margin slightly concave, with distinct pre- and postanal corner. Lateral fascicles: 12–13 postanal groups, each consisting of 3–12 denticles. Marginal denticles: 15–16 groups of single spinule, gradually increasing in size distally.

Terminal claw: Equal in length to preanal portion. Basal spine short, as $1/8$ of the claw, row of small setules from the base of basal spine to distal end.

First antenna (antennule): short, not reaching tip of rostrum. Body compact, rod-like, about twice as long as wide, three rows of small spines on inner and outer side of body.

Second antenna: long, antenna formula, setae 0-0-3/0-1-3, spine 1-0-1/0-0-1. All setae bisegmented, seta arising from the basal of second segment of exopodite with a spinule at the point of segment articulation. Spine of basal segment of endopodite as half length as its segment. Terminal spines shorter than terminal segment of exopodite.

Trunk limb: six pairs

First trunk limb (P1): Outer distal lobe (ODL) with one seta, slender and bearing long well-spaced setules. Row of small spines present at the base of ODL. Inner distal lobe (IDL) with three setae (I-III), seta I and II equal in length, the same length as ODL seta, second segment unilaterally armed with long well-spaced setules, seta III short as 1/3 of seta I-II. Endite 3 (E3) with four plumose setae (1-4) subequal in length, armed with short setules distally. Endite 2 (E2) bearing three apical setae (5-7), of which seta 6 the longest, all setulated. Endite 1 (E1) with two apical setae (8-9), as the same length, seta 8 unilaterally with fine setules, seta 9 armed with long setules basally and shorter distally. Groups of slender spinules present more radial on inner side of endite 2. Trunk with 5-6 rows of slender spines laterally. Basally two long and slender ejector hooks, subequal in length, unilaterally armed with short setules. Epipodite and gnathobase not seen.

Second trunk limb (P2): Epipodite not seen. Exopodite (EX) round-elongated, small setules apically. Endopodite (EN) triangular, with eight scrapers (1-8), generally decreasing in length towards gnathobase though scraper 2 longer than scraper 1, all scrapers bisegmented, similar unilaterally armed with fine setules distally, though scrapers 3 and 5 armed with more strong setules, one small sensillum (sn) between base of scraper 1 and 2. Distal armature of gnathobase (GT) with two elements (I-II), naked.

Third trunk limb (P3): Epipodite not seen. Exopodite (EX) globular, bearing seven setae (1-7): seta 1 and 2 located laterally, in typical V-formation, seta 1 longer than seta 2, both bilaterally setulated, seta 4 slender and longest, bilaterally setulated, setae 5 and 6 similar in length, as 1/3 of the longest, similar armed with bilaterally setulated, seta 7 about half of seta 6.

Endopodite (EN) divided to two rows; anterior row, setae 1 and 2 stout, as the same length, distally armed with short well-spaced setules, setae 3–5 more slender, bilaterally setulated distally, one rod-like seta, naked; posterior row with five setae, similar in length and all bilaterally setulated. Gnathobase (GT) with three elements (I–III), element I long, curved inwards, unilaterally setulated, element II and III shorter, naked, fused at the base of each other. Gnathobasic filter comb with six (?) setae.

Fourth trunk limb (P4): Epipodite not studied. Exopodite (EX) round, bearing six setae (1–6) with generally gradual increasing in length anteriorly though seta 3 longest, as 6–7 times of the seta 6, the shortest, all slender, bilaterally setulated with long setules.

Fifth trunk limb (P5): Pre-epipodite (PEP) and Epipodite (EP) rounded, setulated apically. Exopodite (EX) clearly bilobed, bearing four apical setae (1–4); anterior portion smaller than posterior portion, setae 1–3 on anterior portion, seta 2 longest, setae 1 and seta 3 gradually smaller, respectively, all setulated; posterior portion larger, more round, bearing one seta (seta 4), length as 1/3 of the longest.

Endopodite (EN) larger, more ovoid, setulated apically, two endopodite setae setulated distally, one as 2/3 of another.

Differential diagnosis:

This species can be separated from *Karualona iberica* by length of scraper 2 is longer than scraper 1.

Distribution:

It has been recorded in some places in Thailand (Maiphae et al., 2010)

3. *Karualona* sp.

Karualona sp. เป็น *Karualona* ที่มีลักษณะบางประการไม่สอดคล้องกับ *Karualona* ที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้เสนอเป็น *Karualona* ชนิดใหม่ของโลก โดยมีลักษณะต่างๆ ดังนี้

Materials examined:

Southern Thailand: ten parthenogenetic females, examined complete and thereafter dissected, from Rachaprapa dam, Suratthani Province, southeastern Thailand, collected date 19-03-2010, collected by the author, SM.

The details of morphological study

Species description (see figures 3.12–3.14)

Parthenogenetic female

General shape (fig.3.12): sub-rectangular in lateral view, maximum height at □ of body. Length 0.32–0.35 mm, about 1.2–1.4 times maximal height (n=10). Dorsal margin forms curve. Postero-dorsal and postero-ventral angles almost round or forming a small hillock. Posterior margin slightly concave, postero-ventral corner broadly rounded, with row of denticles. Antero-ventral corner rounded. Ventral margin almost straight, anteriormost with about 10 marginal setae followed by 20–25 slender setae, gradually decreasing in length toward posterior end. Posteriorventral margin with row of small setules. Valve ornamentation reticulation.

Head (fig.3.12): Relatively small. Rostrum short, pointing downward. Compound eye present, larger than ocellus, distance between eye and ocellus shorter than distance from tip of rostrum to ocellus. Posterior margin of head shield angulated. Two connected major head pores, of same size, with a narrow connection between them.

Labrum (fig.3.12): large, with a rounded or polygon-like anterior, lateral indentation large.

Postabdomen (fig.3.13): wide about 2.2 times as long as high, distal part about 1.5 times longer than preanal portion. Proximal portion with almost parallel dorsal and ventral margin

round, gradually narrowing distally. Anal margin slightly concave, with distinct pre- and postanal corner. Lateral fascicles: 12–13 postanal groups, each consisting of 3–12 denticles. Marginal denticles: 15–16 groups of single spinule, gradually increasing in size distally.

Terminal claw (fig.3.13): Equal in length to preanal portion. Basal spine short, as 1/8 of the claw, row of small setules from the base of basal spine to distal end.

First antenna (antennule) : short, not reaching tip of rostrum. Body compact, rod-like, about twice as long as wide, three rows of small spines on inner and outer side of body.

Second antenna: long, antenna formula, setae 0–0–3/0–1–3, spine 1–0–1/0–0–1. All setae bisegmented, seta arising from the basal of second segment of exopodite with a spinule at the point of segment articulation. Spine of basal segment of endopodite as half length as its segment. Terminal spines shorter than terminal segment of exopodite.

Trunk limb: five pairs

First trunk limb (P1) (fig.3.14a): Outer distal lobe (ODL) with one seta, slender and bearing long well-spaced setules. Row of small spines present at the base of ODL. Inner distal lobe (IDL) with three setae (I–III), seta I and II equal in length, the same length as ODL seta, second segment unilaterally armed with long well-spaced setules, seta III short as 1/3 of seta I–II. Endite 3 (E3) with four plumose setae (1–4) subequal in length, armed with short setules distally. Endite 2 (E2) bearing three apical setae (5–7), of which seta 6 the longest, all setulated. Endite 1 (E1) with two apical setae (8–9), as the same length, seta 8 unilaterally with fine setules, seta 9 armed with long setules basally and shorter distally. Groups of slender spinules present more radial on inner side of endite 2. Trunk with 5–6 rows of slender spines laterally. Basally two long and slender ejector hooks, subequal in length, unilaterally armed with short setules. Epipodite and gnathobase not seen.

Second trunk limb (P2) (figs.3.14d): Epipodite not seen. Exopodite (EX) round-elongated, small setules apically. Endopodite (EN) triangular, with eight scrapers (1–8), generally decreasing in length towards gnathobase though scraper 1 shorter than scraper 2, all scrapers

bisegmented, similar unilaterally armed with fine setules distally, though scrapers 3 and 5 armed with more strong setules, one small sensillum (sn) between base of scraper 1 and 2. Distal armature of gnathobase (GT) with two elements (I-II), naked.

Third trunk limb (P3) (figs.3.14e-f): Epipodite not seen. Exopodite (EX) globular, bearing seven setae (1-7): seta 1 and 2 located laterally, in typical V-formation, seta 1 longer than seta 2, both bilaterally setulated, seta 4 slender and longest, bilaterally setulated, setae 5 and 6 similar in length, as 1/3 of the longest, similar armed with bilaterally setulated, seta 7 about half of seta 6.

Endopodite (EN) divided to two rows; anterior row, setae 1 and 2 stout, as the same length, distally armed with short well-spaced setules, setae 3-5 more slender, bilaterally setulated distally, one rod-like seta, naked; posterior row with five setae, similar in length and all bilaterally setulated. Gnathobase (GT) with three elements (I-III), element I long, curved inwards, unilaterally setulated, element II and III shorter, naked, fused at the base of each other. Gnathobasic filter comb with six (?) setae.

Fourth trunk limb (P4) (fig.3.14g): Epipodite not studied. Exopodite (EX) round, bearing six setae (1-6) with generally gradual increasing in length anteriorly though seta 3 longest, as 6-7 times of the seta 6, the shortest, all slender, bilaterally setulated with long setules.

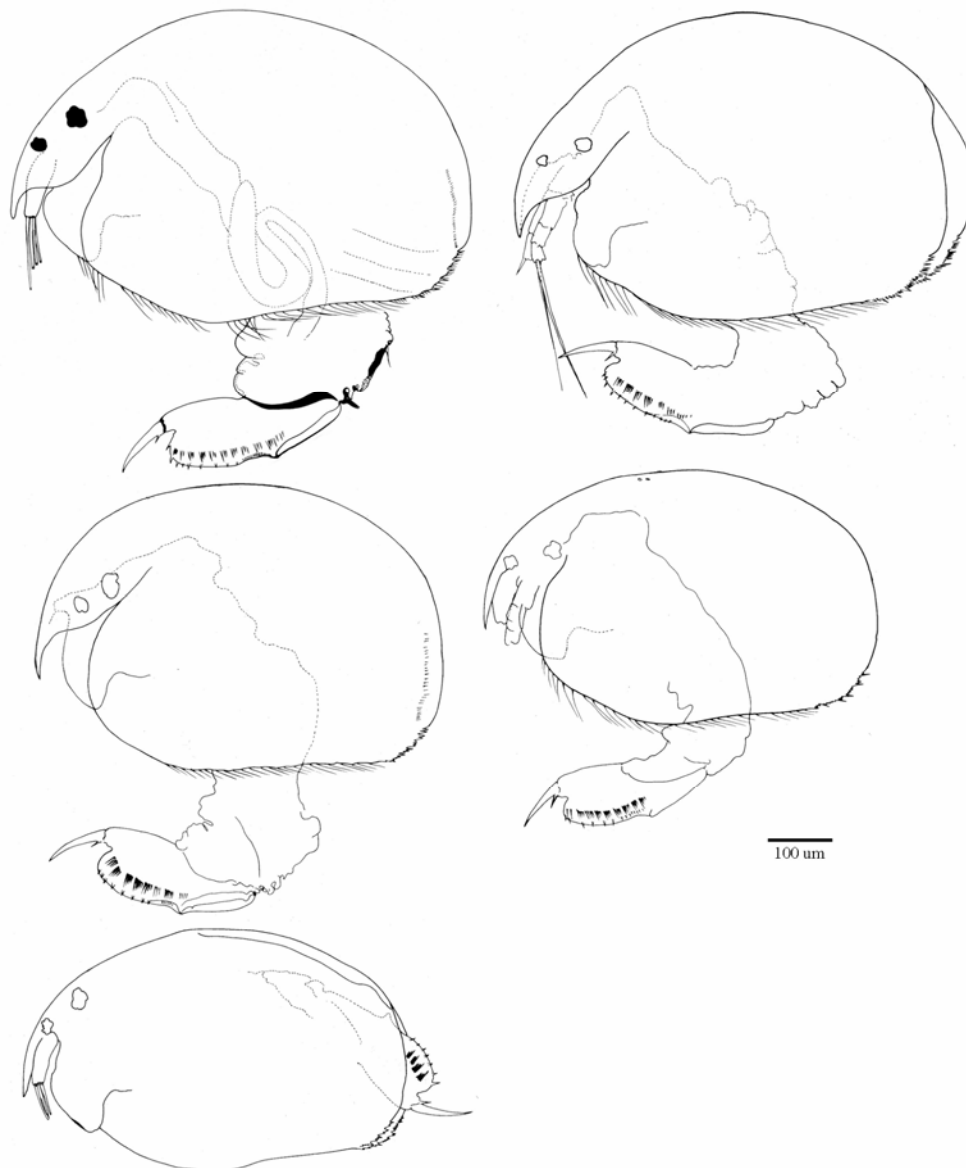
Fifth trunk limb (P5): Pre-epipodite (PEP) and Epipodite (EP) rounded, setulated apically. Exopodite (EX) clearly bilobed, bearing four apical setae (1-4); anterior portion smaller than posterior portion, setae 1-3 on anterior portion, seta 2 longest, setae 1 and seta 3 gradually smaller, respectively, all setulated; posterior portion larger, more round, bearing one seta (seta 4), length as 1/3 of the longest.

Endopodite (EN) larger, more ovoid, setulated apically, two endopodite setae setulated distally, one as 2/3 of another.

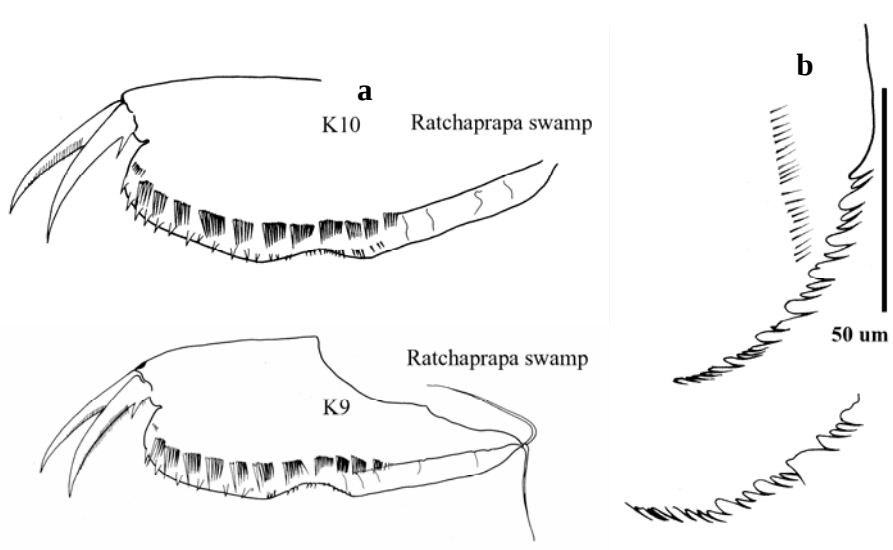
Differential diagnosis: This species can be distinguished by its postero-ventral corner of valve forming row of denticles.

Biology: mostly found in freshwater habitat which covered with aquatic plants

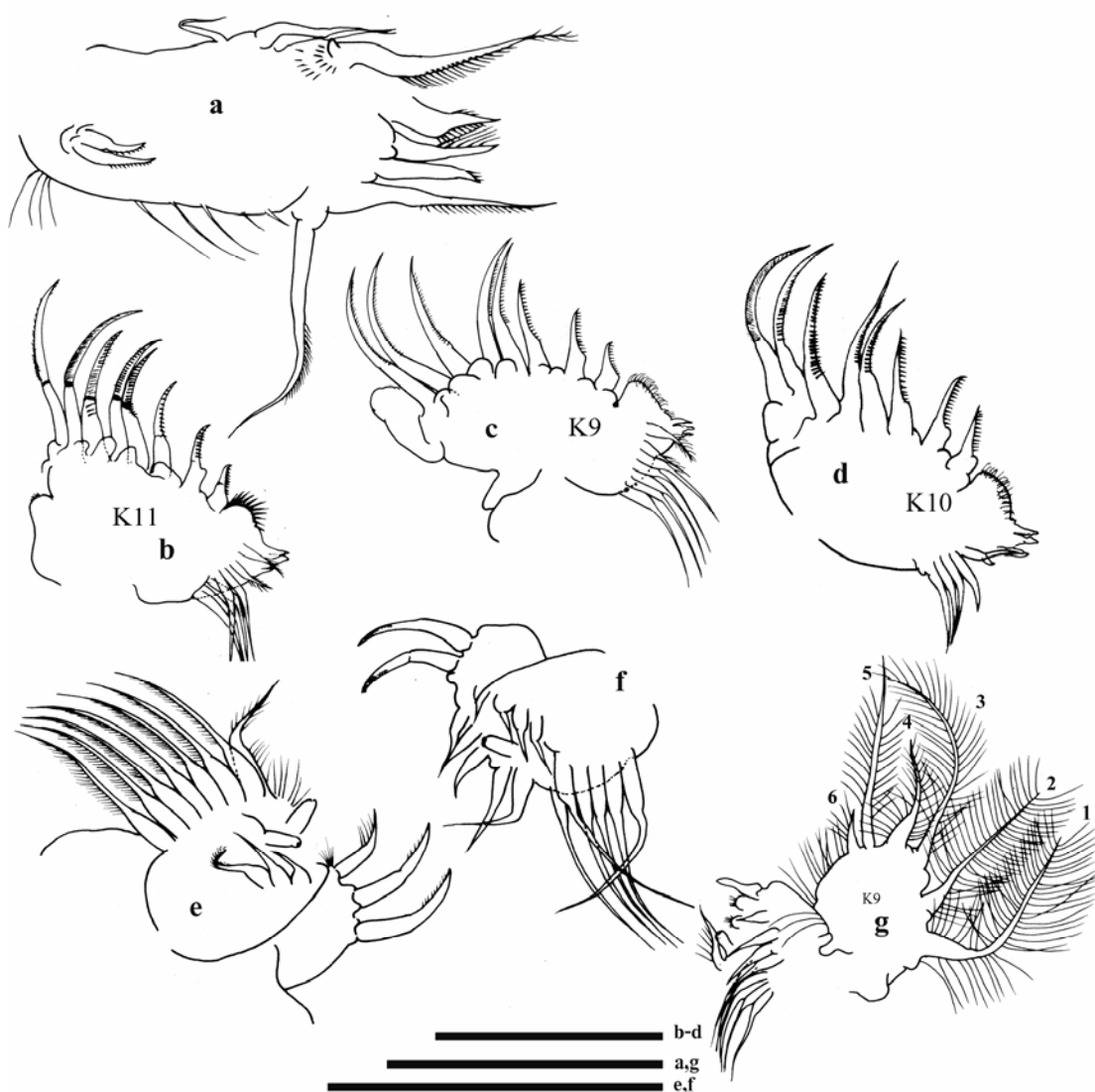
Distribution: It has been found from Rachaprapa dam, Suratthani Province, Natam swamp, Trang Province, Southern Thailand



ภาพที่ 3.12 *Karualona* sp.: ตัวเต็มวัยเพศเมีย จากหนองน้ำเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี



ภาพที่ 3.13 *Karualona* sp.: ระยางค์ของตัวเต็มวัยเพศเมีย จากหนองน้ำเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี
 - ภาพ a, ลักษณะ postabdomen ภาพ b, ลักษณะหนามที่บริเวณด้านท้ายของลำตัว
 สเกลบาร์ = 50 ไมโครเมตร



ภาพที่ 3.14 *Karualona* sp.: รยางค์ขาของตัวเต็มวัยเพศเมีย จากหนองน้ำเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี ภาพ a, รยางค์ขาคู่ที่ 1 (thoracic limb I); ภาพ b-d, รยางค์ขาคู่ที่ 2 (thoracic limb II); ภาพ e-f, รยางค์ขาคู่ที่ 3 (thoracic limb III); ภาพ g, รยางค์ขาคู่ที่ 4 (thoracic limb IV); สเกลบาร์ = 50 ไมโครเมตร

4. การกระจายของ *Karualona* ที่พบในประเทศไทย

จากการตรวจสอบตัวอย่างจากแหล่งน้ำจืดทั่วประเทศ พบว่า *Karualona iberica* เป็นชนิดที่มีการกระจายได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย (ตารางที่ 3.2) *Karualona karua* ปัจจุบันพบกระจายในสองภูมิภาค คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ และ *Karualona* sp. พบกระจายเฉพาะในภาคใต้ อย่างไรก็ตาม หากมีการศึกษาในแหล่งน้ำจืดเพิ่มเติมคาดว่าจะสามารถพบ *Karualona* ทั้งสามชนิดได้ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย

ตารางที่ 3.2 การกระจายของ *Karualona* ที่พบในประเทศไทย

ชนิด	การกระจาย				
	N	NE	W	E	S
1. <i>Karualona iberica</i>	+	+	+	+	+
2. <i>Karualona karua</i>		+			+
3. <i>Karualona</i> sp.					+

Note: + = ปรากฏ, N=ภาคเหนือ, NE=ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, W= ภาคตะวันตก, E= ภาคตะวันออก, S= ภาคใต้

บทที่ 4 สรุปผลการศึกษา

จากผลการศึกษาสามารถตอบคำถามของงานวิจัยและสมมติฐานได้ดังนี้

- 1) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Karualona* ลักษณะใดบ้างที่มีความแปรผันและแปรผันอย่างไรจากผลการศึกษาพบว่า

ลักษณะที่มีความผันแปรในช่วงกว้าง

- 1) รูปร่าง (shape)
- 2) ขนาด (size)
- 3) อัตราส่วนระหว่างความกว้างที่มากที่สุดและความสูงที่สูงที่สุด (ratio of maximum width and maximum height)
- 4) ขนาดของหนามบริเวณส่วนท้ายด้านล่างของเปลือก (size of postero-ventral denticles on valves)
- 5) จำนวนหนามบริเวณส่วนท้ายด้านล่างของเปลือก (number of postero-ventral denticles on valves)
- 6) ความยาวของ scraper บนขาคู่ที่ 2 (length of scrapers of P2)
- 7) ความยาวของส่วน postanal และ anal ของ postabdomen (postanal portion and length of anal groove of postabdomen)
- 8) รอยโค้งบริเวณฐานของ terminal claw (embayment at base terminal claw)

ลักษณะที่มีความผันแปรต่ำ

- 1) สันบริเวณแผ่นปิดส่วนปาก (keel of labrum)
- 2) สัดส่วนระหว่าง External seta (ES) และ Internal seta (IS) บริเวณ Outer distal lobe ของขาคู่ที่ (ES vs IS on ODL)
- 3) ความยาวของ seta ที่ 3 เปรียบเทียบกับความยาวของ seta ที่ 4 บนขาคู่ที่ 3 (seta 3 vs. seta 4 of P3)
- 4) ความยาวของ seta ที่ 4 เปรียบเทียบกับความยาวของ seta ที่ 5 บนขาคู่ที่ 3 (seta 4 vs. seta 5 of P3)
- 5) ความยาวของ seta ที่ 4 เปรียบเทียบกับความยาวของ seta ที่ 5 บนขาคู่ที่ 5 (seta 4 vs. seta 5 of P5)
- 6) ระยะระหว่าง PP และ IP บนหัว (PP vs. IP on head)
- 7) มุมบริเวณ preanal และความสูงบริเวณ postanal (preanal angle and height of postanal angle)

- 8) ขนบริเวณ terminal claw ของ postabdomen (Setules of proximal comb on terminal claw of PA)
- 9) ความกว้างของ postanal และ preanal ของ postabdomen (width at postanal and preanal corners of postabdomen)
- 10) เส้นขนบริเวณด้านข้างของ postabdomen (lateral fascicles of postabdomen)
- 11) Spine บริเวณส่วนปลายของ postabdomen (subdistal spines of postabdomen)
- 12) รูปแบบของเส้นขนบริเวณขอบขอบ postabdomen (pattern of marginal setae of PA)
- 13) ความยาวของ postabdomen (length of postabdomen)

ลักษณะที่มีความผันแปรต่ำและมีความเสถียรของรูปแบบในแต่ละประชากรของ *Karualona* แต่ละชนิด

- 1) รูปแบบของหนามบริเวณด้านท้ายของลำตัว
- 2) Scrapers ของขาคู่ที่ 2

2) แท้จริงแล้วมี *Karualona* ปรากฏอยู่จริง (valid species) ในแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทยกี่ชนิด และเป็นชนิดใดบ้าง

จากการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ประชากรมีลักษณะที่แตกต่างกันจนสามารถแยกออกได้เป็นสองประชากรของชนิดที่เคยมีรายงานอยู่เดิมชัดเจน และยังปรากฏประชากรที่มีลักษณะแตกต่างไปจากทั้งสองประชากรนั้นด้วย ดังนั้นในประเทศไทยจึงมี *Karualona* ที่ปรากฏอยู่ทั้งสิ้น 3 ชนิด คือ *Karualona iberica*, *Karualona karua* และ *Karualona* sp. ซึ่งเป็นชนิดที่คาดว่าเป็นชนิดใหม่ของโลก

3) ลักษณะใดเป็นลักษณะทางอนุกรมวิธานที่ดีที่สามารถใช้ในการจำแนก *Karualona* แต่ละชนิดออกจากกันได้

เนื่องจากลักษณะสัณฐานวิทยาหลายลักษณะมีความแปรผันค่อนข้างสูงและไม่มีรูปแบบที่แน่นอนในแต่ละชนิดจึงไม่สามารถใช้เป็นลักษณะทางอนุกรมวิธานในการจำแนก *Karualona* แต่ละชนิดออกจากกัน อย่างไรก็ตามยังปรากฏลักษณะที่มีความเสถียรในแต่ละประชากรของ *Karualona* แต่ละชนิด คือ ลักษณะของหนามบริเวณท้ายลำตัว และลักษณะของขาคู่ที่ 2 จึงสามารถใช้ลักษณะดังกล่าวในการจำแนก *Karualona* แต่ละชนิดออกจากกันได้

เอกสารอ้างอิง

- Dumont, H. J. and Silva-Briano, M. 2000. *Karualona* n.gen. (Anomopoda: Chydoridae) with a description of two new species, and a key to all known species. *Hydrobiologia* 435: 61–82.
- Frey, D. G. 1995. Changing attitudes toward chydorid anomopods since 1769. *Hydrobiologia* 307: 43–55.
- Korovchinsky, N. M. 1996. How many species of Cladocera are there?. *Hydrobiologia* 321: 191–204.
- Maiphae, S. 2005. Taxonomy and Biogeography of the Cladocera from southern Thailand, with specific reference to *Alona* Baird, 1843 and *Macrothrix* Baird, 1843. Ph.D.Thesis. Prince of Songkla University. 313 pp.
- Maiphae, S., Pholpunthin, P., Dumont, H. J. 2008. Taxon richness and biogeography of the Cladocera (Crustacea: Ctenopoda, Anomopoda) of Thailand. *Ann. Limnol.-Int. J. Lim.* 44 (1) 33–43.