

การศึกษาสัณฐานวิทยาเชิงปริมาณของเขียดงูบางชนิดที่พบในประเทศไทย

Morphometric Study of Some Caecilians in Thailand

ณัฐกรณ์ เตียวเจริญ และ พรวีร์ พรหมโชติ*

Nuttakorn Taewcharoen and Porrawee Pomchote*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Received : 28 August 2018

Revised : 24 January 2019

Accepted : 10 March 2019

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีรายงานการพบเขียดงูสกุล *Ichthyophis* 6 ชนิด ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีการสร้างเกณฑ์ที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเขียดงูในประเทศไทยนอกจากการใช้จำนวนฟันเป็นหลัก จึงนำมาสู่การศึกษาวิจัยในครั้งนี้โดยใช้ตัวอย่างเขียดงู 4 ชนิด ที่ถูกจำแนกกว่าเป็น *Ichthyophis acuminatus*, *I. larutensis*, *I. supachaii* และ *I. kohtaoensis* (2, 2, 10 และ 43 ตัวอย่างตามลำดับ) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเชิงปริมาณภายนอก รวม 38 ลักษณะ วิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักและการวิเคราะห์แบ่งกลุ่มแบบเป็นขั้นตอน พบว่า 1) สามารถจำแนกระยะวัยเด็กระหว่าง *I. kohtaoensis* กับ *I. supachaii* ได้ 2) สามารถจำแนกระยะตัวเต็มวัยระหว่าง *I. acuminatus* กับ *I. larutensis* ได้โดยไม่ต้องใช้จำนวนฟันตามที่มีรายงานมาก่อนหน้า และ 3) ระยะตัวเต็มวัยของ *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* นั้นไม่สามารถถูกจำแนกออกจากกันได้ซึ่งไม่สอดคล้องกับการจำแนกก่อนหน้า และเนื่องจากตัวอย่างส่วนใหญ่ไม่สามารถใช้วัดขนาดหรือจำนวนฟันซึ่งเป็นลักษณะสำคัญในการใช้จำแนกชนิดเขียดงูในสกุล *Ichthyophis* ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องใช้การวิเคราะห์ทางโมเลกุลมาช่วยยืนยันชนิดของตัวอย่าง จากนั้นจึงนำผลการศึกษาดังกล่าวไปใช้ประกอบเพื่อบรรยายลักษณะที่ครอบคลุมความแปรผันของแต่ละชนิด สุดท้ายจึงนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างเกณฑ์สำหรับการจำแนกชนิดเขียดงูที่พบในประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ : เขียดงูหัวแหลม, เขียดงูดำ, เขียดงูศุภชัย, เขียดงูเกาะเต่า, ลักษณะสัณฐานวิทยานอก

*Corresponding author. Email : Porrawee.p@chula.ac.th

Abstract

Six species of the caecilian genus *Ichthyophis* have been reported in Thailand. At present, besides the numbers of teeth, there is no unambiguous criteria, which can be used in the classification and identification of the caecilians in Thailand. We used 4 species of caecilians which were identified as *Ichthyophis acuminatus*, *I. larutensis*, *I. supachaii*, and *I. kohtaoensis* (2, 2, 10 and 43 specimens, respectively). Thirty-eight externally morphometric characters were examined. Principal component and hierarchical cluster analyses were conducted. The results showed that 1) the juveniles of *I. kohtaoensis* could be separated from *I. supachaii*. 2) the adult samples of *I. acuminatus* could be separated from *I. larutensis* without using the criterion of the splenial teeth as previously reported and 3) the adult specimens of *I. supachaii* and *I. kohtaoensis* were not conclusively classified, which was different to the previous identification. Since the pattern of lateral stripe and teeth, the important characters of *Ichthyophis* identification, of most adult *I. kohtaoensis* and *I. supachaii* specimens were unusable, we therefore suggest that molecular analysis is required to confirm species all of specimens first. Next, morphological data of this study will be added to all species descriptions to fulfill the species variations. Finally, molecular and morphological data will be used for the key of Thai caecilians.

Keywords : *Ichthyophis acuminatus*, *Ichthyophis larutensis*, *Ichthyophis supachaii*, *Ichthyophis kohtaoensis*, external morphology

บทนำ

เขียดงู (caecilian) เป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีการแพร่กระจายอยู่ในเขตร้อนชื้นของโลก (Oommen *et al.*, 2000; Jones *et al.*, 2006) และถูกจัดว่าเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังที่มี 4 ขา (tetrapod) กลุ่มหนึ่งที่ถูกศึกษาน้อยที่สุด เพราะอาศัยอยู่ใต้ดินเป็นหลัก (Gower *et al.*, 2002) สำหรับประเทศไทยนั้นมียางงานการพบเขียดงู 6 ชนิด ได้แก่ เขียดงูหัวแหลม (*Ichthyophis acuminatus*), เขียดงูมลายู (*I. asplenioides*; เดิม *Caudacaecilia asplenia*), เขียดงูเกาะเต่า (*I. kohtaoensis*), เขียดงูดำ (*I. larutensis*; เดิม *C. larutensis*), เขียดงูศุภชัย (*I. supachaii*) และเขียดงูดอยสุเทพ (*I. youngorum*) (Chan-ard, 2003; Chuaynkern and Chuaynkern, 2012) เขียดงูทั้งหมดนี้ถูกค้นพบ ตั้งชื่อวิทยาศาสตร์และบรรยายชนิด รวมทั้งถูกสร้างรูปวิธานสำหรับการจำแนกชนิดโดย Edward Harrison Taylor ในช่วงปี ค.ศ. 1960 – 1965 (Taylor, 1960, 1962, 1965) และได้มีการรายงานสกุล *Caudacaecilia* ควรถูกยุบรวมอยู่ในสกุล *Ichthyophis* ด้วยการแยกกันของ 2 สกุลนี้ทำให้ลักษณะของสายวิวัฒนาการนั้นไม่เป็นแบบวงศ์วิวัฒนาการเดี่ยว (monophyly) (Nishikawa *et al.*, 2012b)

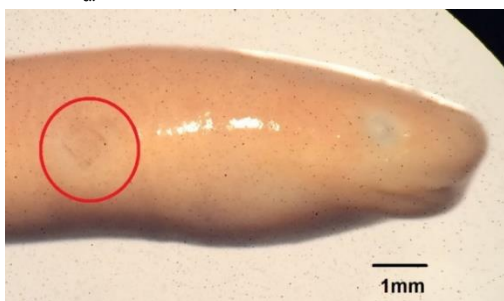
ดังที่กล่าวไปข้างต้นว่าเขียดงูเป็นสัตว์ที่พบเห็นได้ยาก จึงเป็นสาเหตุให้การศึกษาด้านนี้ใช้จำนวนตัวอย่างในการศึกษาที่น้อย เช่น เขียดงูเกาะเต่าใช้ 2 ตัวอย่าง (Taylor, 1960) และเขียดงูดำที่ใช้เพียง 1 ตัวอย่าง (Taylor, 1960) เป็นผลให้คำบรรยายลักษณะต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรูปวิธานนั้นมียางงานละเอียดที่ไม่ครอบคลุมความแปรผัน

(variation) ของแต่ละชนิดได้อย่างเพียงพอ ยกตัวอย่างเช่น รูปวิธานที่สร้างโดย Taylor (1962, 1971) นั้นจะเน้นการจำแนกโดยใช้จำนวนฟันที่เป็นลักษณะเชิงคุณภาพ (meristic character) เป็นหลัก ซึ่งการนับจำนวนฟันของตัวอย่างเขียดที่ถูกเก็บรักษามานั้น ตัวอย่างจะต้องถูกเปิดปากออกก่อนการรักษาสภาพ นอกจากนี้การเปิดปากเขียดที่ยังมีชีวิตเพื่อับจำนวนฟันนั้นทำได้ยากมาก ดังนั้นการนับจำนวนฟันโดยไม่ทำให้ตัวอย่างเสียหายหรือการนับจำนวนฟันโดยไม่ทำให้สัตว์บาดเจ็บนั้นจึงทำได้ยาก ดังนั้นควรมีการศึกษาลักษณะสัณฐานอื่น ๆ ของเขียดเพิ่มเติมเพื่อนำมาใช้ในการจำแนกชนิดและเพื่อให้มีเกณฑ์ในการจำแนกที่มากกว่าการใช้เพียงจำนวนฟันเป็นหลัก

ความสำคัญและข้อได้เปรียบของการศึกษาสัณฐานภายนอกเปรียบเทียบกับการศึกษาด้วยวิธีทางโมเลกุล ได้แก่ การศึกษาสัณฐานภายนอกเป็นวิธีการที่มีค่าใช้จ่ายน้อยกว่า (Hillis, 1987) สามารถนำข้อมูลไปใช้เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชนิดได้ในขั้นต้น (Freidheim, 2016) และที่สำคัญคือสามารถใช้ศึกษาตัวอย่างที่ถูกเก็บรักษาไว้ในคลังพิพิธภัณฑ์โดยไม่ทำให้ตัวอย่างเสียหาย (Hillis, 1987) โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอย่างสัตว์ที่หายาก เช่น เขียด ซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องคงลักษณะต่าง ๆ ให้สมบูรณ์ที่สุด หรือเป็นตัวอย่างที่ถูกเก็บรักษาสภาพไว้เป็นเวลานานหลายสิบปี นอกจากนี้การศึกษาข้อมูลทางอนุกรมวิธานของเขียดชนิดใหม่ที่อาจพบในประเทศไทยนั้น จำเป็นต้องมีข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับความแตกต่างของลักษณะระหว่างชนิดที่ถูกต้องแม่นยำและครอบคลุมความแปรผันของลักษณะที่มากเพียงพอจากที่กล่าวมาข้างต้นจึงนำมาสู่วัตถุประสงค์ของงานวิจัยชิ้นนี้ คือเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเขียดบางชนิดเพิ่มเติมจากรายงานที่มีอยู่เดิม

วิธีดำเนินการวิจัย

ตัวอย่างเขียดที่ใช้ในการศึกษาได้รับความอนุเคราะห์จาก 2 แหล่ง คือ พิพิธภัณฑ์สถานธรรมชาติวิทยา 50 พรรษา สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (จำนวน 7 ตัวอย่าง รหัสขึ้นต้นด้วย A) และพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ (อพวช.) (จำนวน 50 ตัวอย่าง รหัสขึ้นต้นด้วย THNHM) ตัวอย่างทั้งหมดถูกจำแนกมาก่อนหน้าว่ามาจาก 4 ชนิด ได้แก่ *I. acuminatus* ระยะตัวเต็มวัย 2 ตัวอย่าง *I. kohtaoensis* ระยะตัวเต็มวัย 31 ตัวอย่างกับระยะวัยเด็ก 12 ตัวอย่าง *I. larutensis* ระยะตัวเต็มวัย 2 ตัวอย่าง และ *I. supachaii* ระยะตัวเต็มวัย 5 ตัวอย่างกับระยะวัยเด็ก 5 ตัวอย่าง (ข้อมูลเสริมที่ 1) วัยของเขียดจะพิจารณาโดย หากเขียดมีช่องเหงือก (gill chamber) และไม่มีหนวด (tentacle) จะถือว่าเป็นเขียดระยะวัยเด็ก (juvenile) ส่วนเขียดตัวเต็มวัย (adult) จะไม่พบช่องเหงือกและมีหนวดปรากฏแล้ว (Dünker et al., 2000) (ภาพที่ 1)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 1 (ก) ช่องเหงือกที่พบเฉพาะในระยะวัยเด็ก (วงสีแดง) (ข) หนวดที่พบเฉพาะในระยะตัวเต็มวัย (วงสีแดง)

ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานเชิงปริมาณจำนวน 38 ลักษณะ (ข้อมูลเสริมที่ 2) ได้แก่ 1. Total length (TL) คือ ความยาวทั้งหมดของเขี้ยว วัดตั้งแต่ปลายจมูก (snout tip) จนถึงปลายหาง (tail tip) 2. Head length to 1st groove (HL) คือ ความยาวส่วนหัว วัดตั้งแต่ snout tip จนถึงร่องที่ 1 (1st groove) 3. Trunk length (TRL) คือ ความยาวเฉพาะส่วนลำตัว วัดตั้งแต่ 1st groove จนถึงส่วนท้ายของช่องทวารร่วม (posterior slit of vent) 4. Vent length (VL) คือ ความยาวช่องทวารร่วม (vent) วัดตั้งแต่ส่วนต้นของช่องทวารร่วม (anterior slit of vent) จนถึง posterior slit of vent 5. Tail length (TAL) คือ ความยาวหาง วัดตั้งแต่ posterior slit of vent จนถึง tail tip 6. Body width at anterior vent disc (BAV) คือ ความกว้างลำตัวบริเวณส่วนต้นของช่องทวารร่วม วัดตรงบริเวณ anterior slit of vent 7. Tail width at posterior vent (TAW) คือ ความกว้างหาง วัดตรงบริเวณ posterior slit of vent 8. Upper jaw length (UJL) คือ ความยาวปากส่วนบน วัดตั้งแต่ snout tip จนถึงขอบปาก (mouth corner) 9. Lower jaw length (LJL) คือ ความยาวปากส่วนล่าง วัดตั้งแต่ปลายของปากส่วนล่าง (lower jaw tip) จนถึง mouth corner 10. Snout projection (SPJ) คือ ส่วนของ snout tip ที่ยื่นเกิน lower jaw tip 11. Snout-2nd collar groove length (S2CL) คือ ส่วนของ snout tip จนถึงร่องที่ 2 (2nd groove) วัดตั้งแต่ snout tip จนถึง 2nd groove 12. Snout-3rd collar groove length (S3CL) คือ ส่วนของ snout tip จนถึงร่องที่ 3 (3rd groove) วัดตั้งแต่ snout tip จนถึง 3rd groove 13. 1st collar length (CL1) คือ ความยาวของปล้องแรก (1st collar) วัดตั้งแต่ 1st groove จนถึง 2nd groove 14. 2nd collar length (CL2) คือ ความยาวของปล้องที่ 2 (2nd collar) วัดตั้งแต่ 2nd groove จนถึง 3rd groove 15. Head width at jaw angle (HW) คือ ความกว้างหัว วัดระหว่าง mouth corner ทั้ง 2 ด้าน 16. Maximum head width (MXHW) คือ ความกว้างหัวที่มากที่สุด วัดจากบริเวณ 1st groove 17. Body width at middle (BWM) คือ ความกว้างลำตัว วัดตรงตำแหน่งกลางลำตัวที่กว้างที่สุด 18. Lateral stripe width at middle (LSWM) คือ ความกว้างเส้นข้างลำตัว วัดส่วนที่กว้างที่สุดของแถบสีข้างลำตัวตรงบริเวณกลางลำตัว 19. Interorbital distance (EE) คือ ระยะห่างระหว่างตา วัดจากขอบด้านใน (internal) ที่ใกล้กันที่สุดระหว่างตา 2 ข้าง 20. Intertentacle distance (TT) คือ ระยะห่างระหว่างหนวด วัดจากตำแหน่งช่องเปิดของหนวด (tentacle aperture) 2 ด้าน 21. Internarial distance (NN) คือ ระยะห่างระหว่างรูจมูก วัดจากรูจมูกทั้ง 2 ด้าน 22. Eye-nostril distance (EN) คือ ระยะห่างระหว่างตากับจมูก วัดจากขอบตาด้านที่ใกล้จมูกที่สุดไปยังรูจมูก 23. Eye-tentacle distance (ET) คือ ระยะห่างระหว่างตากับหนวด วัดจากขอบตาด้านที่ใกล้หนวดที่สุดไปยัง tentacle aperture 24. Tentacle-nostril distance (TN) คือ ระยะห่างระหว่างหนวดกับจมูก วัดจาก tentacle aperture ไปยังรูจมูก 25. Eye-jaw angle distance (EJD) คือ ระยะห่างระหว่างตากับมุมปาก วัดจากขอบตาด้านใกล้ mouth corner ที่สุดจนถึง mouth corner 26. Eye-lip distance (EL) คือ ระยะห่างจากตาถึงริมฝีปาก วัดตั้งแต่ขอบตาที่ใกล้ริมฝีปากที่สุดจนถึงริมฝีปากที่ใกล้ตาที่สุด 27. Eye-snout distance (ES) คือ ระยะห่างจากตาถึง snout tip วัดตั้งแต่ขอบตาด้านใกล้ snout tip ที่สุด จนถึง snout tip 28. Eye diameter (ED) คือ เส้นผ่านศูนย์กลางตา วัดส่วนที่กว้างที่สุดของดวงตา 29. TN/ET 30. HL/ED 31. SPJ/HL 32. TL/TAL 33. TL/BWM 34. BAV/TAW 35. EN/ET 36. VL/TAW 37. VL/BAV และ 38. BWM/LSWM (ดัดแปลงจาก Nishikawa *et al.*, 2012a; Geissler *et al.*, 2015) โดยลักษณะที่ 1 ถึง 28 จะวัดความยาวด้วยดิจิทัลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ที่มีความละเอียด 0.01 มิลลิเมตรภายใต้การสังเกตผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และจะนำมาหารด้วยค่า Snout-vent length (SVL) คือ

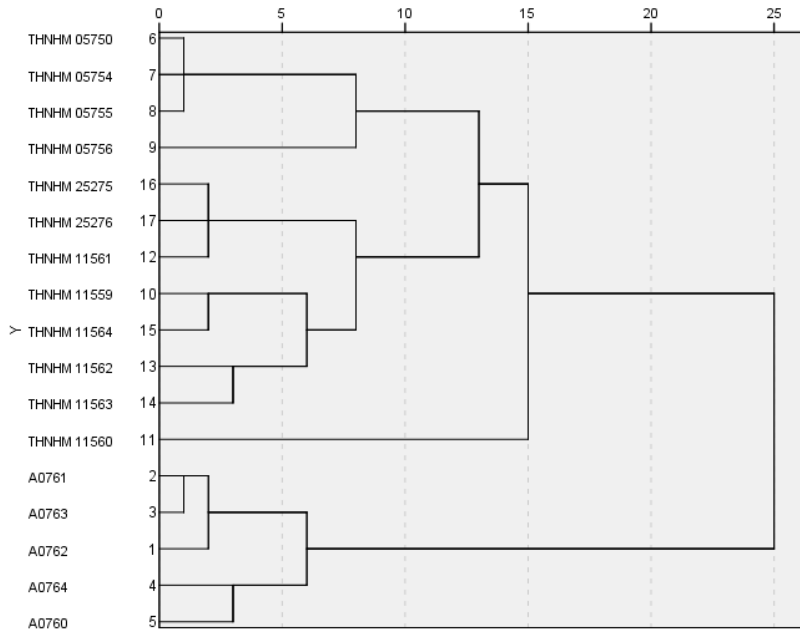
ความยาวตั้งแต่ปลายจมูกจนถึงรูทวารร่วม เพื่อเป็นการปรับค่าข้อมูลให้เป็นมาตรฐานเดียวกันก่อนการนำไปคำนวณทางสถิติ ส่วนลักษณะที่ 29 ถึง 38 เป็นอัตราส่วนที่ได้จากการคำนวณ

สถิติที่ใช้สำหรับทดสอบเพื่อพิจารณาลักษณะที่สามารถใช้ในการจัดกลุ่มเขียดได้ คือ การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis; PCA) โดยไม่ทำการหมุนแกนปัจจัย และการวิเคราะห์แบ่งกลุ่มแบบเป็นขั้นตอน (hierarchical cluster analysis; HCA) ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ between-groups linkage และการวิเคราะห์ระยะห่างด้วยวิธี squared euclidean distance โดยไม่แปลงข้อมูลให้เป็นค่ามาตรฐาน (z-score) รวมทั้งทำการทดสอบการกระจายของข้อมูลและความแตกต่างของค่าในแต่ละลักษณะระหว่างกลุ่มด้วย การวิเคราะห์ทั้งหมดทำในโปรแกรม SPSS รุ่น 22 สำหรับระบบปฏิบัติการวินโดวส์

ผลการวิจัย

จากการศึกษาสัณฐานเชิงปริมาณของเขียดงูระยะวัยเด็กทั้ง 17 ตัวอย่างที่ถูกจำแนกมาก่อนหน้าว่าเป็น *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* จำนวน 12 และ 5 ตัวอย่างตามลำดับนั้น พบว่าเขียดงูระยะวัยเด็กมีลักษณะสัณฐานยังปรากฏไม่ครบเหมือนระยะตัวเต็มวัย ได้แก่ 1st groove, 2nd groove และหนวด ทำให้ลักษณะที่ไม่สามารถวัดค่าได้ประกอบด้วย HL, TRL, S2CL, S3CL, CL1, CL2, TT, ET, TN, TN/ET, HL/ED, SJP/HL, EN/ET ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์ลักษณะที่เหลืออีก 25 ลักษณะ พบว่าเมื่อใช้ลักษณะ ได้แก่ TL, TAL, VL, UJL, LJL, HW, MXHW, BWM, TAW, LSWM, EE, NN, EN, EJD, BAV, SPJ, EL, ES และ ED ในการวิเคราะห์ด้วย HCA นั้นสามารถแยกตัวอย่างเขียดงูออกเป็น 2 กลุ่มได้สอดคล้องกับการจำแนกเดิม (ภาพที่ 2) เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยหลักด้วย PCA พบว่าจากลักษณะทั้ง 19 ลักษณะข้างต้น สามารถจัดให้ 15 ลักษณะอยู่ในปัจจัยแรก (1st component) ได้ ประกอบด้วย TL, TAL, VL, HW, MXHW, BWM, TAW, EE, NN, EN, EJD, BAV, EL, ES และ ED (ตารางที่ 1)

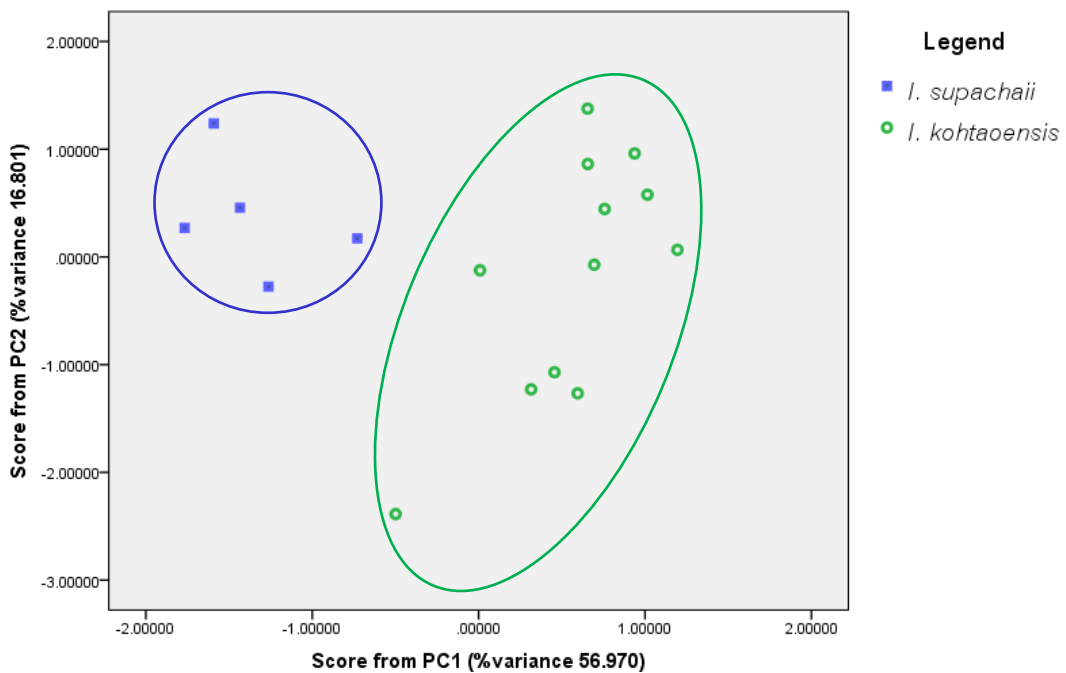
จากผลการศึกษาเขียดงูระยะตัวเต็มวัยทั้ง 40 ตัวอย่างจากที่ถูกจำแนกมาก่อนหน้าว่ามี 4 ชนิดนั้น พบว่าในขั้นต้นสามารถแยกออกได้เป็น 2 กลุ่มโดยใช้การปรากฏและไม่ปรากฏของลายข้างลำตัว (lateral stripe) เช่นเดียวกับที่เคยมีการใช้ในรายงานที่ผ่านมา (Taylor, 1962, 1971; Chan-ard, 2003) กลุ่มที่ไม่มีลายข้างลำตัวมี 4 ตัวอย่างที่ถูกจำแนกมาว่าเป็น *I. acuminatus* และ *I. larutensis* ชนิดละ 2 ตัวอย่าง แต่เนื่องจากบางตัวอย่างมีความเสียหายและกลุ่มนี้ไม่มีลายข้างลำตัว จึงตัด 11 ลักษณะคือ HL, TRL, S2CL, S3CL, CL1, CL2, MXHW, LSWM, HL/ED, SJP/HL และ BWM/LSWM ออกจากการวิเคราะห์ เมื่อวิเคราะห์ด้วย PCA พบว่ามี 19 ลักษณะที่จัดให้อยู่ในปัจจัยแรกได้คือ TL, TAL, VL, UJL, LJL, HW, TAW, NN, EN, ET, TN, EJD, BAV, SPJ, EL, ES, ED, TL/TAL และ VL/BAV (ตารางที่ 3) การกระจายของคะแนนปัจจัยจากปัจจัยที่ 1 และ 2 ของแต่ละตัวอย่างเป็นดังภาพที่ 4 เมื่อนำลักษณะในปัจจัยแรกมาวิเคราะห์การจัดกลุ่ม ต่อด้วย HCA พบว่าตัวอย่างเขียดงูถูกแยกออกเป็น 2 กลุ่มกลุ่มละ 2 ตัวอย่างซึ่งสอดคล้องกับการจำแนกที่มีมาก่อนหน้า (ภาพที่ 5) ลักษณะที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง 2 กลุ่มนี้คือ TL, TAL, VL, HW, TAW, NN และ TL/TAL (independent samples T-test, $p < 0.05$) (ตารางที่ 4) ซึ่งทั้ง 7 ลักษณะไม่มีการซ้อนทับกันระหว่างกลุ่ม (ข้อมูลเสริมที่ 3)



ภาพที่ 2 Dendrogram จากการวิเคราะห์ด้วย HCA ของเชื้อดงูวัยเด็ก โดยรหัส THNHM xxxxx คือชนิด

I. kohtaoensis ส่วนรหัส Axxxx คือชนิด *I. supachaii*

ปัจจัยที่ 1 และ 2 ที่กระจายตัว เป็นดังภาพที่ 3 ค่าในแต่ละลักษณะระหว่าง 2 กลุ่มที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ TL, TAL, VL, HW, MXHW, TAW, EE, NN, EN, EJD, SPJ, EL, ES, TL/TAL, BAV/TAW และ VL/BAV (independent samples T-test, $p < 0.05$) (ตารางที่ 2) และค่าที่ไม่มีการซ้อนทับกันระหว่างกลุ่มคือ VL, MXHW, EE, EN, EJD และ EL (ข้อมูลเสริมที่ 3) ซึ่งค่าเหล่านี้เป็นลักษณะที่ปรากฏในปัจจัยแรกที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่ซ้อนทับกันระหว่างกลุ่ม



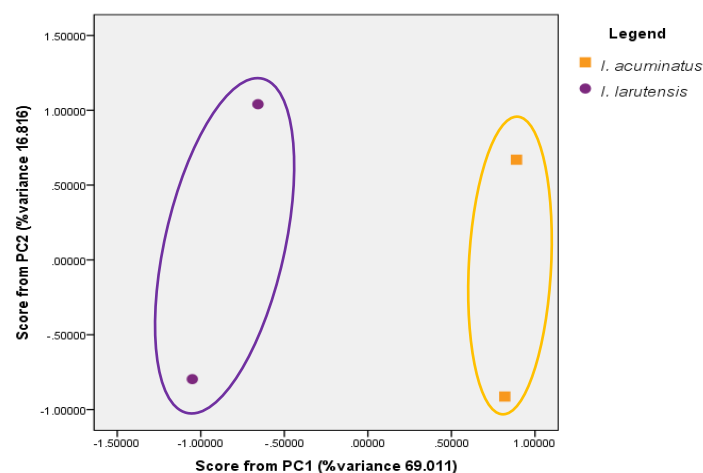
ภาพที่ 3 การกระจายของคะแนนปัจจัยจากปัจจัยที่ 1 และ 2 ของเชื้อดงูวัยเด็กชนิด *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii*

ตารางที่ 1 ค่า factor loading ของแต่ละลักษณะในปัจจัยแรกของเขียดงูวัยเด็กชนิด *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* เมื่อวิเคราะห์ด้วย PCA

ลักษณะ	Factor loading	ลักษณะ	Factor loading	ลักษณะ	Factor loading
TL	0.719	BWM	0.741	EJD	0.931
TAL	0.719	TAW	0.718	BAV	0.669
VL	0.759	EE	0.898	EL	0.919
HW	0.927	NN	0.885	ES	0.883
MXHW	0.949	EN	0.961	ED	0.747

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของลักษณะที่หารด้วย SVL ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างเขียดงูวัยเด็กชนิด *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii*

ลักษณะ	mean ± SD		ลักษณะ	mean ± SD	
	<i>I. kohtaoensis</i>	<i>I. supachaii</i>		<i>I. kohtaoensis</i>	<i>I. supachaii</i>
TL	1.031±0.005	1.022±0.001	EN	0.022±0.002	0.016±0.001
TAL	0.031±0.005	0.022±0.001	EJD	0.013±0.001	0.009±0.001
VL	0.009±0.001	0.004±0.001	SPJ	0.006±0.002	0.002±0.001
HW	0.044±0.004	0.003±0.002	EL	0.012±0.001	0.007±0.001
MXHW	0.048±0.004	0.035±0.003	ES	0.024±0.002	0.018±0.001
TAW	0.017±0.003	0.014±0.003	TL/TAL	34.564±6.168	46.023±2.403
EE	0.034±0.004	0.023±0.002	BAV/TAW	2.372±0.078	1.372±0.078
NN	0.018±0.002	0.013±0.001	VL/BAV	0.398±0.138	0.246±0.085



ภาพที่ 4 การกระจายของคะแนนปัจจัยจากปัจจัยที่ 1 และ 2 ของเขียดงูตัวเต็มวัยชนิด *I. acuminatus* และ *I. larutensis*

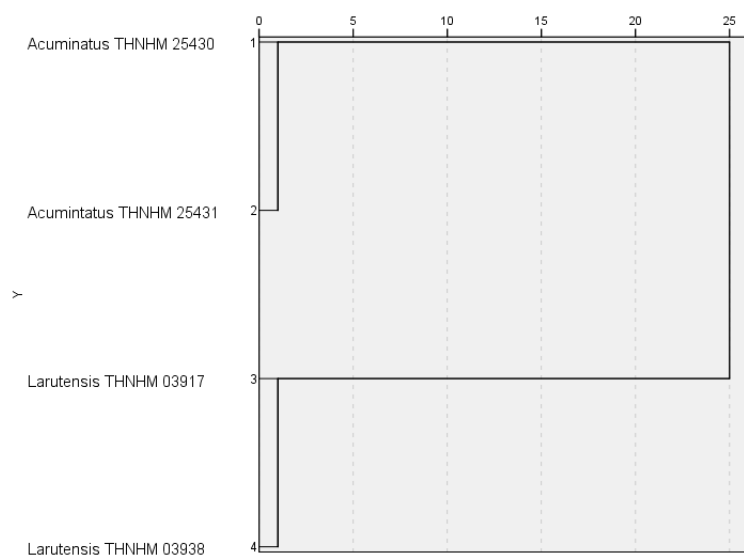
ตารางที่ 3 ค่า factor loading ของลักษณะในปัจจัยแรกของเขียดงูตัวเต็มวัยชนิด *I. acuminatus* และ *I. larutensis* เมื่อวิเคราะห์ด้วย PCA

ลักษณะ	Factor loading	ลักษณะ	Factor loading	ลักษณะ	Factor loading
TL	0.967	NN	-0.983	EL	0.852
TAL	0.967	EN	0.882	ES	0.932
VL	0.985	ET	0.915	ED	-0.912
UJL	0.951	TN	0.670	TL/TAL	-0.982
LJL	0.974	EJD	0.893	VL/BAV	0.942
HW	0.995	BAV	0.910		
TAW	0.957	SPJ	-0.730		

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของลักษณะที่หารด้วย SVL ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

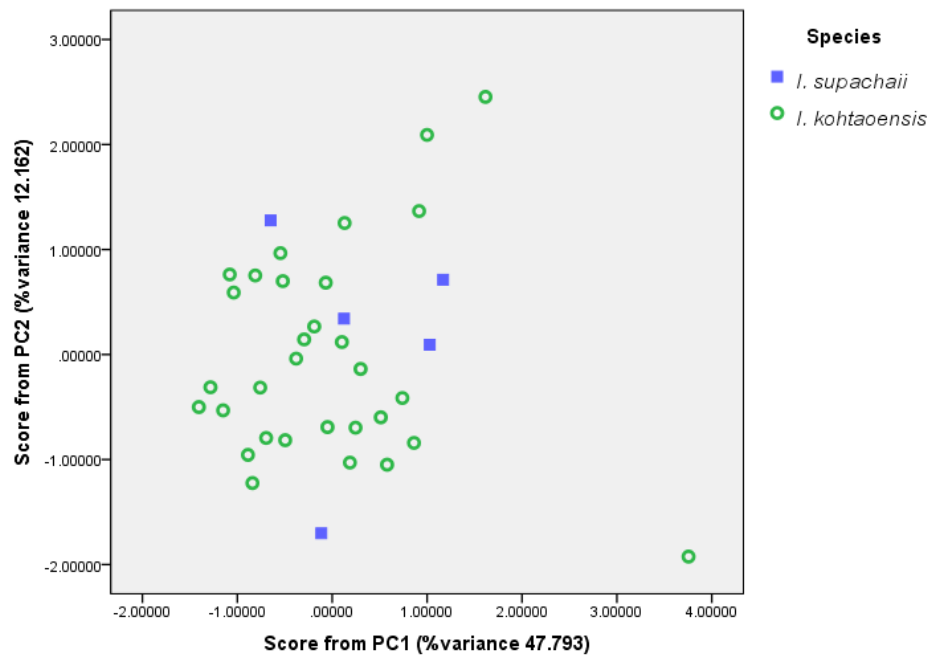
ระหว่างเขียดงูตัวเต็มวัยชนิด *I. acuminatus* และ *I. larutensis*

ลักษณะ	mean \pm SD		ลักษณะ	mean \pm SD	
	<i>I. acuminatus</i>	<i>I. larutensis</i>		<i>I. acuminatus</i>	<i>I. larutensis</i>
TL	1.016 \pm 0.001	1.011 \pm 0.000	TAW	0.016 \pm 0.000	0.010 \pm 0.001
TAL	0.016 \pm 0.001	0.011 \pm 0.000	NN	0.009 \pm 0.000	0.011 \pm 0.000
VL	0.006 \pm 0.000	0.003 \pm 0.000	TL/TAL	65.302 \pm 4.654	88.352 \pm 1.900
HW	0.030 \pm 0.000	0.027 \pm 0.001			



ภาพที่ 5 Dendrogram จากการวิเคราะห์ด้วย HCA ของเขียดงูตัวเต็มวัย โดย Acuminatus คือ *I. acuminatus* ส่วน Larutensis คือ *I. larutensis*

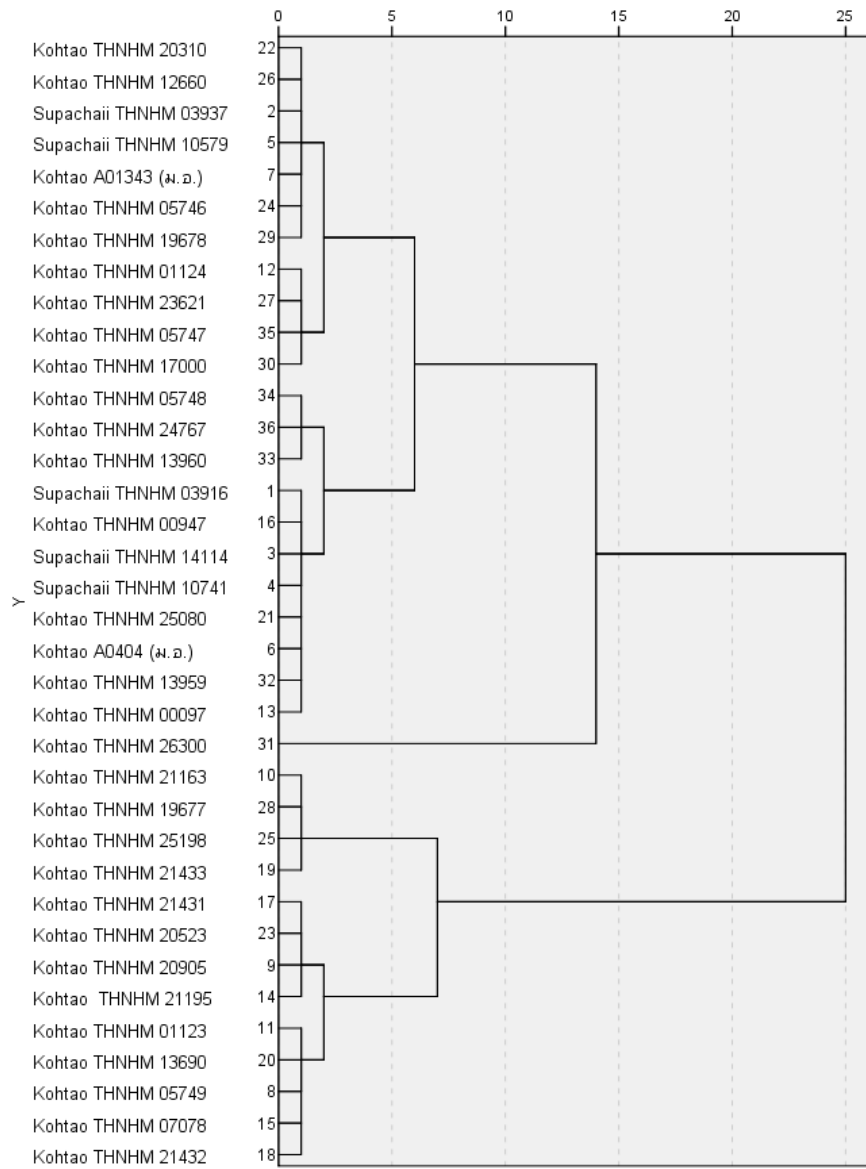
ส่วนผลการศึกษาเชิงคุณระยะตัวเต็มวัยอีก 36 ตัวอย่างที่มีลายข้างลำตัวซึ่งถูกจำแนกมาก่อนหน้าว่าเป็น *I. kohtaoensis* 31 ตัวอย่าง และ *I. supachaii* 5 ตัวอย่างนั้น จากการวิเคราะห์ด้วย PCA พบว่ามี 22 ลักษณะที่สามารถจัดให้อยู่ในปัจจัยแรกได้ คือ TL, HL, TRL, TAL, UJL, LJL, S2CL, S3CL, CL1, CL2, HW, MXHW, EE, TT, NN, EN, ET, TN, EJD, EL, ES และ TL/TAL (ตารางที่ 5) มีการกระจายของคะแนนปัจจัยจากปัจจัยที่ 1 และ 2 ของแต่ละตัวอย่างดังภาพที่ 6 ซึ่งพบว่าตัวอย่างทั้งหมดนั้นไม่สามารถถูกแยกออกเป็นกลุ่มได้ตามการจำแนกที่มีมาก่อนหน้า และเมื่อนำลักษณะจากปัจจัยแรกมาวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วย HCA ต่อพบว่าเชิงดูที่เคยถูกจำแนกก่อนหน้าเป็น *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* นั้นถูกจัดอยู่ปะปนกัน (ภาพที่ 7) และเมื่อใช้ลักษณะที่เคยใช้จำแนกได้ในระยะวัยเด็กทั้ง 19 ลักษณะมาวิเคราะห์ด้วย HCA พบว่ายังคงให้ผลการจัดกลุ่มที่ทั้ง 2 ชนิดนี้ปะปนกันอยู่เช่นเดิม (ข้อมูลเสริมที่ 4)



ภาพที่ 6 การกระจายของคะแนนปัจจัยจากปัจจัยที่ 1 และ 2 ของเชิงดูตัวเต็มวัยชนิด *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii*

ตารางที่ 5 ค่า factor loading ของลักษณะในปัจจัยแรกของเชิงดูตัวเต็มวัยชนิด *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* เมื่อวิเคราะห์ด้วย PCA

ลักษณะ	Factor loading	ลักษณะ	Factor loading	ลักษณะ	Factor loading
TL	0.632	CL1	0.896	ET	0.853
HL	0.960	CL2	0.717	TN	0.941
TRL	-0.960	HW	0.964	EJD	0.615
TAL	0.632	MXHW	0.945	EL	0.861
UJL	0.915	EE	0.955	ES	0.939
LJL	0.864	TT	0.957	TL/TAL	-0.645
S2CL	0.971	NN	0.912		
S3CL	0.964	EN	0.970		



ภาพที่ 7 Dendrogram จากการวิเคราะห์ด้วย HCA ของเชื้อดงในตัวเต็มวัย โดย Kohtao คือชนิด *I. kohtaoensis* ส่วน Supachai คือชนิด *I. supachaii*

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการศึกษาในเชื้อดงระยะวัยเด็ก 2 ชนิดคือ *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* พบว่าการจำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานเชิงปริมาณ ได้แก่ VL, MXHW, EE, EN, EJD และ EL นั้น ให้ผลการจำแนกที่สอดคล้องตามการจำแนกก่อนหน้า ซึ่งข้อมูลนี้สามารถนำไปเสริมกับข้อมูลที่มีอยู่เดิมที่ใช้ในการจำแนกเชื้อดงชนิด *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* ที่มีกรกล่าวถึงลักษณะสำหรับการจำแนกเฉพาะระยะตัวเต็มวัยเท่านั้น เช่น ความยาวทั้งตัว อัตราส่วนระหว่างความยาวลำตัวทั้งหมดต่อความกว้างลำตัว หรือจำนวนฟัน (Taylor, 1971; Chan-ard, 2003) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้มาจากจำนวนตัวอย่างของแต่ละชนิดที่ยังไม่มากเท่าที่ควรและยังไม่มีข้อมูลทางสัณฐานจากการศึกษาอื่นใดมาช่วยสนับสนุนผลการศึกษา ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างและใช้เทคนิคทางโมเลกุลมาช่วยในการยืนยันผลการศึกษา

ในการทำงานเดียวกัน จากผลการศึกษาที่พบว่าเขียดงูระยะตัวเต็มวัยที่ไม่มีลายข้างลำตัว 2 ชนิด คือ *I. acuminatus* และ *I. larutensis* สามารถถูกจำแนกออกจากกันได้โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานเชิงปริมาณ ได้แก่ TL, TAL, VL, HW, TAW, NN และ TL/TAL นั้นมีความแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้าโดย Geissler และคณะ (2015) ซึ่งระบุว่าระหว่างเขียดงูชนิด *I. acuminatus* และ *I. larutensis* นั้นสามารถถูกแยกออกจากกันได้โดยใช้การปรากฏของฟันชุด splenial ที่เป็นลักษณะทางสัณฐานเชิงคุณภาพซึ่ง *I. acuminatus* จะมีฟันชุดนี้ (ภาพที่ 8) ส่วน *I. larutensis* จะไม่มีฟันชุดนี้ แต่ปัญหาที่พบในการศึกษาครั้งนี้ คือปากของเขียดงูไม่ได้ถูกเปิดไว้ก่อนการรักษาสภาพ จึงไม่สามารถใช้เกณฑ์นี้ได้ อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Taylor (1962, 1971) ระบุว่าส่วนปลายจมูกของ *I. acuminatus* นั้นจะค่อนข้างแหลม แต่ไม่ได้ระบุค่าเอาไว้ ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่าค่า NN ของ *I. acuminatus* นั้นน้อยกว่าของ *I. larutensis* อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ค่า HW ของ *I. acuminatus* นั้นมากกว่า *I. larutensis* อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4) รวมทั้งเมื่อสร้างอัตราส่วน HW/NN มาวิเคราะห์ห้รวมได้ผลดังนี้ *I. acuminatus* (3.536 ± 0.149) มีค่าสูงกว่าใน *I. larutensis* (2.374 ± 0.096) อย่างมีนัยสำคัญ (independent samples T-test, $p < 0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลายจมูกของ *I. acuminatus* นั้นแหลมกว่าของ *I. larutensis*



ภาพที่ 8 ฟันชุด splenial (ปลายลูกครีเสีเหลือง) ที่พบในตัวอย่าง *I. acuminatus*

สำหรับเขียดงูระยะตัวเต็มวัยที่มีลายข้างลำตัว 2 ชนิดคือ *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* ที่ผู้วิจัยไม่สามารถแยกออกจากกันได้ด้วยสัณฐานเชิงปริมาณซึ่งไม่สอดคล้องกับการจำแนกก่อนหน้านั้น ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์เพิ่มเติมโดยใช้ลักษณะลายข้างลำตัวเพื่อจำแนกตามรายงานของ Taylor (1960) แต่ก็ยังไม่ได้ผลการจัดกลุ่มที่ชัดเจน เนื่องจากลายของเขียดงูนั้นไม่เป็นไปตามคำบรรยายชนิดทั้งหมด กล่าวคือลักษณะลายข้างลำตัวตามคำบรรยายชนิด *I. kohtaoensis* นั้นจะมีลักษณะกว้างและแยกเป็น 2 แฉกที่บริเวณปาก แต่ Taylor (1960) ไม่ได้ระบุถึงความกว้างของลายว่ามีค่าเท่าใด รวมทั้งยังพบว่าตัวอย่างเขียดงูที่ถูกระบุมาว่าเป็น *I. supachaii* แต่ลายบริเวณปากแยกเป็น 2 แฉก ส่วนลักษณะลายข้างลำตัวตามคำบรรยายชนิด *I. supachaii* นั้นจะมีลักษณะแคบและลายจะขาดออกจากกันที่บริเวณคอ (Taylor, 1960) หรือไม่ขาดจากกัน (Kupfer and Müller, 2004) ก็ได้ แต่ยังไม่พบรายงานที่ระบุขนาดของลายว่าขนาด

ลายที่แคบนั้นคือเท่าใด ซึ่งจากการวิเคราะห์โดยใช้ลวดลายยังคงให้ผลการจำแนกตัวอย่างเขียดงูที่ไม่สอดคล้องกับการจำแนกชนิดที่มีมาก่อนหน้าและแตกต่างจากผลการจำแนกตามภาพที่ 7 อีกด้วย ยิ่งไปกว่านั้นจากรายงานของ Geissler และคณะ (2015) ระบุว่าเขียดงูที่เคยถูกจำแนกมาเป็น *I. kohtaoensis* จากประเทศไทยที่เมื่อนำไปศึกษาด้วยวิธีการทางโมเลกุลแล้วพบว่า เป็นเขียดงูชนิด *I. bannanicus* ประกอบกับรายงานของ Nishikawa และคณะ (2012b) ที่มีรายงานการพบเขียดงู *I. bannanicus* ในประเทศไทยเช่นกัน จึงมีความเป็นไปได้ว่าอาจมีเขียดงูบางตัวอย่างที่ถูกนำมาศึกษาในครั้งนี้ถูกจำแนกมาอย่างไม่ถูกต้องแต่แรกก็เป็นได้ ทางผู้วิจัยจึงนำข้อมูลตัวอย่างเขียดงูที่ศึกษาได้นี้ไปเปรียบเทียบกับคำบรรยายของ *I. kohtaoensis* โดย Taylor (1960), *I. supachaii* โดย Taylor (1960) แก้ไขโดย Kupfer และ Müller (2004) และ *I. bannanicus* โดย Datong (1984) พบว่าเขียดงูที่ถูกจำแนกมาว่าเป็น *I. kohtaoensis* และตรงกับคำบรรยายชนิดมี 5 ตัวอย่าง (รหัส THNHM 05746, THNHM 05748, THNHM 13960, THNHM19678 และ THNHM 24767) ส่วนตัวอย่างที่ถูกจำแนกมาว่าเป็น *I. supachaii* และตรงกับคำบรรยายชนิดมี 2 ตัวอย่าง (รหัส THNHM 10579 และ THNHM 10741) ส่วนตัวอย่างอื่น ๆ อีก 29 ตัวอย่างนั้นจะเข้ากับคำบรรยายลักษณะที่มากกว่า 1 ชนิด อีกทั้งเมื่อทำการจำแนกเขียดงูโดยใช้รูปวิธานที่สร้างโดย Taylor (1971) ยังพบว่าตัวอย่างเขียดงูที่นำมาศึกษานั้นมีลักษณะที่คาบเกี่ยวระหว่างเกณฑ์ในการจำแนกของทั้ง 2 ชนิด คือ *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* เช่น เขียดงูที่ถูกจำแนกมาว่าเป็น *I. supachaii* (รหัส THNHM 14114) ถึงแม้จะมีจำนวนฟันเขี้ยวกับรูปวิธานของ *I. supachaii* แต่อัตราส่วนระหว่างความยาวทั้งหมดต่อความกว้างลำตัวกลับเข้ากับรูปวิธานของ *I. kohtaoensis* เป็นต้น โดยผู้วิจัยสันนิษฐานว่าปัญหานี้ อาจเกิดจากคำบรรยายชนิดนั้นมาจากจำนวนตัวอย่างที่น้อย นั่นคือคำบรรยาย *I. kohtaoensis* มาจาก 2 ตัวอย่าง (Taylor, 1960), คำบรรยาย *I. supachaii* มาจาก 11 ตัวอย่าง (Taylor, 1960) กับ 3 ตัวอย่างเพิ่มเติม (Kupfer and Müller, 2004) ทำให้ข้อมูลในคำบรรยายเหล่านั้นไม่ครอบคลุมความแปรผันของลักษณะและไม่ครอบคลุมมากพอในการสร้างรูปวิธานทำให้รูปวิธานที่สร้างขึ้นอาจไม่สามารถใช้จำแนกได้อย่างแม่นยำ ดังนั้นจึงควรมีการนำตัวอย่างต้นแบบ (holotype) มาทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับลักษณะที่ยังไม่ถูกกล่าวถึงในการรายงานของ Taylor (1960) และ Kupfer และ Müller (2004) เช่น VL, UJL, LJL, TAW, LSWM เป็นต้น แล้วนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบเพื่อยืนยันลักษณะของแต่ละชนิดอีกครั้ง อย่างไรก็ตามผลการศึกษาที่ได้ยังคงมีความเป็นไปได้อยู่ว่าการจัดกลุ่มในรูปแบบใดรูปแบบหนึ่งอาจจะถูกต้องแล้ว เพียงแต่ยังไม่สามารถสรุปได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้จากรายงานการกระจายตัวของเขียดงูชนิด *I. kohtaoensis* พบว่ามี การกระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย (Chan-ard, 2003; Khonsue et al., 2011) ส่วน *I. supachaii* มีรายงานส่วนใหญ่ ว่ามีการกระจายตัวอยู่ทางภาคใต้ของประเทศไทย (Chan-ard, 2003) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่เขียดงูทั้ง 2 ชนิดนี้มีการกระจายตัวซ้อนทับกันในพื้นที่ เช่น มีรายงานการแพร่กระจายของเขียดงูทั้ง 2 ชนิดที่จังหวัดนครศรีธรรมราชและมี รายงานของชนิด *I. supachaii* ที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน (Chuaynkern and Chuaynkern, 2012) เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการวิเคราะห์ทางโมเลกุลมาช่วยยืนยันชนิด จากนั้นจึงนำผลการศึกษาทางสัณฐานนี้ไปใช้ ประกอบเพื่อหาลักษณะที่แตกต่างและสร้างเป็นเกณฑ์สำหรับการจำแนกชนิดต่อไป

การศึกษาสัณฐานของเขียดงูครั้งนี้ทำการศึกษาเฉพาะลักษณะเชิงปริมาณที่วัดความยาวได้ (morphometric character) โดยไม่ได้นำลักษณะเชิงคุณภาพที่นับจำนวนได้ (meristic character) มาพิจารณา เนื่องจากผู้วิจัยพบว่า ลักษณะที่นับจำนวนได้ที่ใช้จำแนกชนิดของเขียดงู เช่น จำนวนปล้องของเขียดงู (Taylor, 1962, 1971) มีความสัมพันธ์กับ

ความยาวตัวของเขียดงูอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 6) จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนกชนิด อีกทั้งดังที่กล่าวไปในส่วนของบทนำในเรื่องของการใช้จำนวนฟันเป็นเกณฑ์พิจารณาชนิดของเขียดงูนั้น แม้จะมีการระบุว่าจำนวนฟันของเขียดงูเป็นลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด (Nishikawa *et al.*, 2012a) แต่เมื่อทำการศึกษาดูอย่างที่ถูกรักษาสภาพนั้น พบว่าในเขียดงูระยะวัยเด็กนั้นจำนวนฟันอาจจะยังมีไม่ครบ (Kupfer and Müller, 2004) และในส่วนของระยะตัวเต็มวัยพบว่าจำนวนตัวอย่างมากถึง 24 จาก 40 ตัวอย่างที่ปากนั้นไม่ถูกเปิดหรือปากมีความเสียหาย ทำให้ไม่สามารถนับจำนวนฟันที่ถูกต้องและนำมาใช้ในการวิเคราะห์ได้ ดังนั้นข้อแนะนำเกี่ยวกับการรักษาสภาพเขียดงูคือควรทำด้วยความระมัดระวังและเปิดปากของเขียดงูก่อนทำการรักษาสภาพ เพื่อที่จะนำตัวอย่างนั้นมาใช้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานได้อย่างมีประสิทธิภาพในภายหลัง

ตารางที่ 6 ค่าสหสัมพันธ์ Pearson ของจำนวนปล้องกับความยาวลำตัว จากตัวอย่างเขียดงูตัวเต็มวัยที่มีลายข้างลำตัว

		Total dorsal annuli	Total ventral annuli
TL	Pearson correlation	0.636	0.679
	<i>p</i> -value	0.000	0.000
	N	36	36

สรุปผลการวิจัย

เขียดงูที่สามารถจำแนกชนิดได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานภายนอกคือ 1) ระยะวัยเด็กระหว่างชนิด *I. kohtaoensis* และ *I. supachaii* โดยใช้ลักษณะ VL, MXHW, EE, EN, EJD และ EL และ 2) ระยะตัวเต็มวัยระหว่างชนิด *I. acuminatus* และ *I. larutensis* โดยใช้ลักษณะ TAL, VL, HW, TAW, NN และ TL/TAL ส่วนระยะตัวเต็มวัยระหว่างชนิด *I. kohtaoensis* กับ *I. supachaii* นั้นยังไม่สามารถหาเกณฑ์ที่สามารถใช้จำแนกชนิดอย่างแม่นยำได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิชญ์ คุ้ม และ รองศาสตราจารย์ ดร. Kanto Nishikawa สำหรับคำแนะนำและข้อเสนอแนะ ขอขอบพระคุณความอนุเคราะห์จากพิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยา 50 พรรษา สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และพิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑสถานศาสตร์แห่งชาติ (อพวช.) ที่ให้ยืมตัวอย่างเขียดงูเพื่อใช้ในการศึกษา ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ประจำปีการศึกษา 2560 ปีงบประมาณ 2561 จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- Chan-ard, T. (2003). *A photographic guide to amphibians in Thailand*. Bangkok: Darnsutha Press. (in Thai).
- Chuaynkern, Y. and Chuaynkern, C. (2012). A checklist of amphibians in Thailand. *Journal of Wildlife in Thailand*, 19(1), 163-211. (in Thai).

- Datong, Y. (1984). A new species of *Ichthyophis* – *I. bannanica*. *Acta Herpetologica Sinica*, 3(2), 73-76.
- Dünker, N., Wake, M.H. and Olson, W.M. (2000). Embryonic and larval development in the caecilian *Ichthyophis kohtaoensis* (Amphibia, Gymnophiona): a staging table. *Journal of Morphology*, 243(1), 3-34.
- Friedheim, S. (2016). Comparison of species identification methods DNA barcoding versus morphological taxonomy. *Manoa Horizons*, 1, 74-86.
- Geissler, P., Poyarkov Jr, N.A., Grismer, L., Nguyen, T.Q., An, H.T., Neang, T., Kupfer, A., Ziegler, T., Böhme, W. and Müller, H. (2015). New *Ichthyophis* species from Indochina (Gymnophiona, Ichthyophiidae): 1. The unstriped forms with descriptions of three new species and the redescriptions of *I. acuminatus* Taylor, 1960, *I. youngorum* Taylor, 1960 and *I. laoensis* Taylor, 1969. *Organisms Diversity and Evolution*, 15(1), 143-174.
- Gower, D.J., Kupfer, A., Oommen, O.V., Himstedt, W., Nussbaum, R.A., Loader, S.P., Presswell, B., Krishna, S.B., Müller, H., Boistel, R. and Wilkinson, M. (2002). A molecular phylogeny of ichthyophiid caecilians (Amphibia: Gymnophiona: Ichthyophiidae): out of India or out of South East Asia?. *Proceedings of the Royal Society B*, 269(1500), 1563-1569.
- Hillis, D.M. (1987). Molecular versus morphological approaches to systematics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 18, 23-42.
- Jones, D.T., Loader, S.P. and Gower, D.J. (2006). Trophic ecology of East African caecilians (Amphibia: Gymnophiona), and their impact on forest soil invertebrates. *Journal of Zoology*, 269(1), 117-126.
- Khonsue, W., Pansook, A., Laotao, S., Danaisawat, S., Thammachote, P., Thitiphuri, T., Maneeintha, R., Pariyanont, P. and Sornon, S. (2011). *Amphibians on Thai Islands*. Bangkok: Siributra Printing. (in Thai).
- Kupfer, A. and Müller, H. (2004). On the taxonomy of ichthyophiid caecilians from southern Thailand: A reevaluation of the holotype of *Ichthyophis supachaii* Taylor 1960 (Amphibia: Gymnophiona: Ichthyophiidae). *Amphibia-Reptilia*, 25(1), 87-97.
- Nishikawa, K., Matsui, M. and Yambun, P. (2012a). A new unstriped *Ichthyophis* (Amphibia: Gymnophiona: Ichthyophiidae) from Mt. Kinabalu, Sabah, Malaysia. *Current Herpetology*, 31(2), 67-77.
- Nishikawa, K., Matsui, M., Yong, H-S., Ahmad, N., Yambun, P., Belabut, D.M., Sudin, A., Hamidy, A., Orlov, N.L., Ota, H., Yoshikawa, N., Tominaga, A. and Shimada, T. (2012b). Molecular phylogeny and biogeography of caecilians from Southeast Asia (Amphibia, Gymnophiona, Ichthyophiidae), with special reference to high cryptic species diversity in Sundaland. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(3), 714-723.

- Oommen, O.V., Measey, G.J., Gower, D.J. and Wilkinson, M. (2000). Distribution and abundance of the caecilian *Gegeneophis ramaswamii* (Amphibia: Gymnophiona) in southern Kerala. *Current Science*, 79(9), 1386-1389.
- Taylor, E.H. (1960). On the caecilian species *Ichthyophis monochrous* and *Ichthyophis glutinosus* and related species. *University of Kansas Science Bulletin*, 40, 37-120.
- Taylor, E.H. (1962). The amphibian fauna of Thailand. *University of Kansas Science Bulletin*, 43, 265-599.
- Taylor, E.H. (1965). New Asiatic and African caecilians with redescrptions of certain other species. *University of Kansas Science Bulletin*, 46, 253-302.
- Taylor, E.H. (1971). The caecilian fauna of Thailand with an examination of scale characters. *Natural History Bulletin of the Siam Society*, 24, 33-39.