

ความหลากหลายทางสัณฐานและพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสีชนิด *Catostylus townsendi*

บริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด และความเป็นไปได้ของการเกิดชนิดซ่อนเร้น

Morphological and Genetic Variation in the Multi-colored Jellyfish *Catostylus townsendi* along the Coast of Trat Province Suggests Possible Cryptic Diversityทรงศรินทร์ ปณิธานะรักษ์^{1*} และสุพัตรา ตะเหลบ¹Thadsin Panithanarak^{1*} and Supattra Taleb¹

Received date: 22 ส.ค. 68 Revised date: 16 ต.ค. 68 Accepted date: 28 ต.ค. 68

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2026.268822>

บทคัดย่อ

แมงกะพรุนหลากสีที่พบสะพรั่งบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด ถูกจำแนกเป็นชนิด *Catostylus townsendi* จากข้อมูลสัณฐานเพียงอย่างเดียว และในปัจจุบันมีการศึกษาพันธุกรรมของแมงกะพรุนชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการยืนยันชนิดและศึกษาความเชื่อมโยงของพันธุกรรม การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อยืนยันชนิดและตรวจสอบความเชื่อมโยงของพันธุกรรมในแมงกะพรุนหลากสีที่พบในประเทศไทยกับพื้นที่อื่น โดยการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานร่วมกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *COI* (cytochrome c oxidase subunit I) และตรวจสอบระยะห่างทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ การศึกษาลักษณะสัณฐานของแมงกะพรุน 21 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวแทนของแมงกะพรุน 7 กลุ่ม ตามความผันแปรของสีบนลำตัวและหนวด จากบริเวณหาดคลองสน ตำบลแหลมกลัด อำเภอมือ จังหวัดตราด พบแมงกะพรุน 7 กลุ่ม มีลักษณะสัณฐานที่จำเป็นต่อการจำแนกชนิด ได้แก่ ความยาวของหนวดรอบปาก จำนวนและขนาดของริ้วขอบร่ม และรูปร่างของอวัยวะรับความรู้สึกคล้ายกัน จัดเป็นชนิด *C. townsendi* การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *COI* ของแมงกะพรุน 18 ตัวอย่าง พบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์น้อย สอดคล้องกับค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรม (K2P) ($0.19 \pm 0.09\%$) การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยการสร้างแผนผังความสัมพันธ์ด้วยวิธี maximum likelihood พบแมงกะพรุนหลากสีอยู่ในกลุ่มวิวัฒนาการเดียวกับแมงกะพรุนชนิดเดียวกันจากบริเวณตะวันออกของทะเลจีนใต้ ด้วยค่าความเชื่อมั่น 100 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานร่วมกับข้อมูลทางพันธุกรรมยืนยันการจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากสี และแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการเกิดชนิดซ่อนเร้นในขอบเขตการแพร่กระจายของแมงกะพรุนชนิดนี้ ซึ่งมีความสำคัญต่อการประเมินความหลากหลายและการอนุรักษ์ทรัพยากรทางชีวภาพ

คำสำคัญ: *Catostylus townsendi* ยีน *COI* ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ อนุกรมวิธานโมเลกุล

Abstract

Multi-colored jellyfish that bloomed along the coast of Trat Province were classified as *Catostylus townsendi* based on morphological data alone. Currently, an increasing number of studies on *C. townsendi* genetics have led to the verification of the species and the investigation of its genetic connectivity. Therefore, this study aimed to confirm species identification and investigate genetic connectivity between Thai and other populations of multi-colored jellyfish by morphological character and *COI* (cytochrome c oxidase subunit I) nucleotide sequence analyses. In addition, pairwise genetic distances and phylogenetic analyses were also examined. Morphological evaluation of 21 jellyfish (representing 7 groups defined by color variation on bells and oral arms), collected from Klongson Beach, Laemklud, Muang, Trat Province showed that the 7 morphotypes were morphologically similar with comparable key morphological characters, namely oral arm length, number and size of lappets, and rhopalium shape, and were classified to the species *C. townsendi*. The *COI* sequence variation of 18 jellyfish samples was low consistence with a mean pairwise genetic distance (K2P) ($0.19 \pm 0.09\%$). The maximum likelihood phylogenetic tree revealed that multi-colored jellyfish were in the same clade as *C. townsendi* from the east of The South China Sea, strongly supported by a 100 percent bootstrap value. Morphological and genetic results confirmed the species identification of multi-colored jellyfish and suggested

¹ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

¹ Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131

* Corresponding author: thadsin@buu.ac.th

the possibility of cryptic species detection within *C. townsendi* distribution. This suggestion is important for biodiversity assessment and conservation.

Keywords: *Catostylus townsendi*, COI gene, phylogeny, molecular taxonomy

คำนำ

ปรากฏการณ์การรวมตัวกันของแมงกะพรุนจำนวนมากบริเวณเหนือผิวน้ำ หรือที่เรียกว่า การสะสมของแมงกะพรุน (jellyfish bloom) เป็นปรากฏการณ์ตามธรรมชาติ มีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ การเพิ่มปริมาณสารอาหารลงสู่แหล่งน้ำ การเปลี่ยนแปลงแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยง การทำประมงเกินขนาด การนำเข้า-ส่งออกสัตว์น้ำต่างถิ่น (alien species) และการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Richardson et al., 2009; Hashim et al., 2023) ส่วนใหญ่มีผลกระทบต่อ การท่องเที่ยว อุตสาหกรรมโรงไฟฟ้า (ทำให้เกิดการอุดตันในระบบหล่อเย็นของโรงไฟฟ้า) และการทำประมงชายฝั่ง (Lynam et al., 2006; Purcell et al., 2007) ในประเทศไทยพบการสะสมของแมงกะพรุนหลากหลายสปีชีส์บริเวณชายฝั่งทะเลของจังหวัดตราด ตั้งแต่หาดราชนาญณ์ อำเภอเมือง ถึงอ่าวไม้รุต อำเภอคลองใหญ่ ระหว่างเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายนของทุกปี โดยมีรายงานการพบตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 จนถึงปัจจุบัน (MGR Online, 2013; Nation Thailand, 2024; TNA, 2024) แต่อย่างไรก็ตาม การสะสมของแมงกะพรุนหลากหลายสปีชีส์บริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด ทำให้เกิดการสร้างความเสียหายในชุมชนจากการท่องเที่ยวในเทศกาลชมแมงกะพรุนหลากหลายสปีชีส์ ซึ่งจัดขึ้นเป็นประจำทุกปี (MGR Online, 2013; Nation Thailand, 2024; Pattaya Mail, 2024; TNA, 2024) สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน ได้จำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากหลายสปีชีส์ที่พบสะสมบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด ว่าเป็นแมงกะพรุนชนิด *Catostylus townsendi* (Phylum Cnidaria, Class Scyphozoa, Family Catostylidae) จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว (Marine and Coastal Resources, and Mangrove Research and Development Institute, 2015) แมงกะพรุนในสกุล *Catostylus* มีรายงานทั่วโลกทั้งหมด 11 ชนิด (*C. cruciatus*, *C. mosaicus*, *C. ornatellus*, *C. ouwensi*, *C. perezi*, *C. purpureus*, *C. tagi*, *C. townsendi*, *C. tripterus*, *C. turgescens* และ *C. viridescens*) (WoRMS Editorial Board, 2025) ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบ *C. townsendi* เพียงชนิดเดียว แมงกะพรุนชนิดนี้มีลำตัวนิ่มใสคล้ายร่ม มีสีสันแตกต่างกัน ตั้งแต่ขาว เหลืองนวล น้ำตาล ฟ้ำ ม่วง น้ำเงิน มีหนวดรูปทรงกรวยจำนวน 8 เส้นอยู่ด้านล่างลำตัว บริเวณหนวดมีเข็มพิษ ซึ่งมีความรุนแรงไม่มากนักและไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ (Marine and Coastal Resources, and Mangrove Research and Development Institute, 2015) แมงกะพรุนชนิดนี้พบแพร่กระจายบริเวณคาบสมุทรมาลายู และเกาะชวา ประเทศอินโดนีเซีย (Kramp, 1961) ในประเทศไทยพบบริเวณทะเลอันดามัน จังหวัดภูเก็ต และอ่าวไทยตั้งแต่จังหวัดตราด จันทบุรี ระยอง ชลบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร สมุทรปราการ สมุทรสงคราม ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และสงขลา (Marine and Coastal Resources, and Mangrove Research and Development Institute, 2015)

ในปี พ.ศ. 2560 รายงานการศึกษาสัณฐานวิทยาเบื้องต้นและความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแมงกะพรุนหลากหลายสปีชีส์ โดย Panithanarak and Taleb (2017a) พบว่าแมงกะพรุนหลากหลายสปีชีส์ที่พบสะสมในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2556 บริเวณคลองเขา ล้าน หาดราชนาญณ์ อำเภอเมือง และปากคลองอ่าวไม้รุต อำเภอคลองใหญ่ จังหวัดตราด มีลักษณะสัณฐานคล้ายคลึงกัน จัดอยู่ในสกุล *Catostylus* โดยมีลำตัวนิ่มคล้ายร่ม ผิวเรียบ ไม่มีปุ่ม มีสีสันแตกต่างกัน ได้แก่ สีขาวและฟ้ำ รวมถึงมีเม็ดสปีกระเจาอยู่ทั่วไป หนวดเป็นรูปทรงกรวย มีจำนวน 8 เส้นอยู่ด้านล่างลำตัว มีสีสันแตกต่างกัน ตั้งแต่ขาว ม่วง และค่อนข้างดำ พบความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) น้อย และมีระยะห่างทางพันธุกรรมน้อย (Kimura 2-parameter (K2P) genetic distance 0-0.75%) เทียบเท่ากับระยะห่างทางพันธุกรรมภายในแมงกะพรุนชนิดเดียวกัน (Holst and Laakmann, 2013) แต่ไม่สามารถจำแนกได้ถึงระดับชนิด เนื่องจากขาดข้อมูลของลักษณะสัณฐานที่จำเป็นต่อการจัดจำแนกในระดับชนิด ได้แก่ ความยาวของหนวดรอบปาก (oral arm) จำนวนและขนาดของริ้วขอบร่ม (lappets) และลักษณะรูปร่างของอวัยวะรับสัมผัส (rhopalium) และฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับสากล (GenBank) ในขณะนั้นไม่มีข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน COI ของแมงกะพรุนในสกุล *Catostylus* (ยกเว้นแมงกะพรุนชนิด *C. mosaicus* ซึ่งพบบริเวณชายฝั่งทางตะวันออกของประเทศออสเตรเลีย) ในปัจจุบันมีการศึกษาแมงกะพรุนในสกุล *Catostylus* รวมถึงแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ในระดับพันธุกรรมเพิ่มมากขึ้น (Abboud et al., 2018; Gómez-Daglio et al., 2022) โดยพบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน COI ของแมงกะพรุนในสกุลนี้ทั้งหมด 3 ชนิด (*C. mosaicus*, *C. tagi* และ *C. townsendi*) จากการสืบค้นฐานข้อมูล GenBank และพบว่าไม่มีข้อมูลไมโทคอนเดรียลจีโนมทั้งหมด (mitochondrial complete genome) ของแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ที่สามารถนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมงกะพรุนหลากหลายสปีชีส์ที่พบในประเทศไทย เพื่อการยืนยันการจำแนกชนิดที่ถูกต้องและศึกษาความเชื่อมโยงของพันธุกรรมในประชากรที่พบในประเทศไทยเปรียบเทียบกับในพื้นที่อื่นต่อไป ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมี

วัตถุประสงค์เพื่อยืนยันการระบุชนิดที่ถูกต้องของแมงกะพรุนหลากสี (พบความผันแปรของสีบนลำตัวและหนวด) ซึ่งพบสะพรั่งบริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดตราด เป็นประจำทุกปี และตรวจสอบความเชื่อมโยงของพันธุกรรมในประชากรที่พบในประเทศไทยกับในพื้นที่อื่น โดยการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาร่วมกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *COI* และตรวจสอบระยะห่างทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ข้อมูลพื้นฐานจากการศึกษานี้มีความสำคัญต่อการตรวจติดตามความหนาแน่นและการแพร่กระจายของแมงกะพรุน รวมไปถึงการเฝ้าระวังปรากฏการณ์การสะพรั่งของแมงกะพรุน เพื่อการป้องกันและบรรเทาผลกระทบของปรากฏการณ์ต่อการท่องเที่ยวทางทะเล การประมงชายฝั่ง และอุตสาหกรรมโรงไฟฟ้า นอกจากนี้แล้วยังมีความสำคัญต่อการประเมินความหลากหลายและการอนุรักษ์ทรัพยากรทางชีวภาพของสัตว์ในกลุ่มนี้ซึ่งมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ

วิธีการศึกษา

การเก็บรวบรวมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างแมงกะพรุนโดยใช้สวิงขนาดเล็กตักบนเรือตามวิธีการของ Browne and Kingsford (2005) จากบริเวณหาดคลองสน ตำบลแหลมกลัด อำเภอเมือง จังหวัดตราด (Figure 1) ในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่พบการสะพรั่งของแมงกะพรุน จากการเก็บตัวอย่าง 1 สถานี จำนวน 1 ครั้ง พบแมงกะพรุนทั้งหมด 7 กลุ่ม ตามความผันแปรของสีที่พบบนลำตัวและหนวด โดยการใช้การจำแนกความผันแปรของสีตามการศึกษาของ Panithanarak and Taleb (2017b) ได้แก่ กลุ่ม A ลำตัวสีขาว ขอบร่มสีม่วง หนวดสีขาว กลุ่ม B ลำตัวสีขาว ขอบร่มสีม่วง หนวดสีม่วง กลุ่ม C ลำตัวสีฟ้า มีจุดสีฟ้า หนวดสีเข้ม กลุ่ม D ลำตัวสีฟ้า หนวดสีเข้ม กลุ่ม E ลำตัวสีขาว มีจุดสีน้ำเงิน หนวดสีขาว กลุ่ม F ลำตัวสีขาว หนวดสีเข้ม และกลุ่ม G ลำตัวสีขาว หนวดสีขาว (Figure 2) เก็บตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของแต่ละกลุ่ม จำนวน 3 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 21 ตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง (bell diameter, เซนติเมตร) ซึ่งน้ำหนักเปียก (wet weight, กรัม) และบันทึกลักษณะสัณฐานภายนอก เช่น สีบนลำตัวและหนวด ตัวอย่างที่นำไปศึกษาต่อทางสัณฐานวิทยาใช้ตัวอย่างทั้งตัวที่เก็บรักษาด้วยฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ โดยศึกษาลักษณะสัณฐานตามคู่มือจำแนกชนิดแมงกะพรุนในชั้น Scyphozoa โดย Mianzan and Cornelius (1999) ได้แก่ ร่ม (bell/umbrella) ริวขอบร่ม (lappets) หนวด (oral arm) และลักษณะสัณฐานที่จำเป็นต่อการจำแนกในระดับชนิด ได้แก่ ความยาวของหนวดรอบปาก จำนวนและขนาดของริวขอบร่ม และรูปร่างของอวัยวะรับความรู้สึก (rhopalium) (Figure 3) สำหรับตัวอย่างที่นำไปศึกษาทางพันธุกรรมมาจากการตัดเนื้อเยื่อความยาว 0.5-1 เซนติเมตร บริเวณหนวดหรือขอบร่มและเก็บรักษาด้วยเอทิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (absolute ethanol)

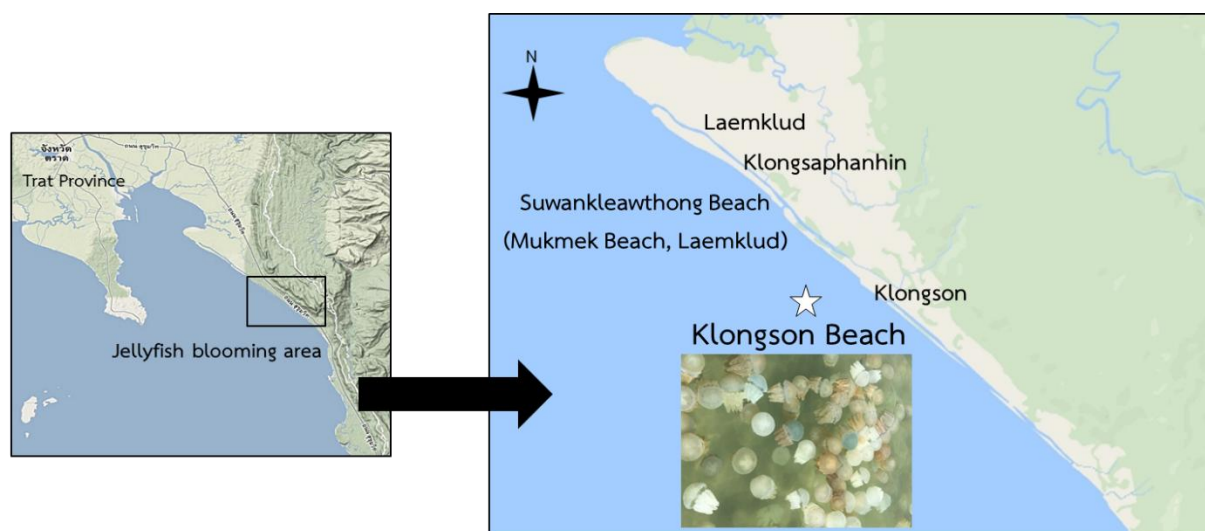


Figure 1 Map of jellyfish blooming area at Klongson Beach, Laemklud, Muang, Trat Province in October 2016 (edited from Panithanarak and Taleb, 2017a). A sampling station is indicated by a white star

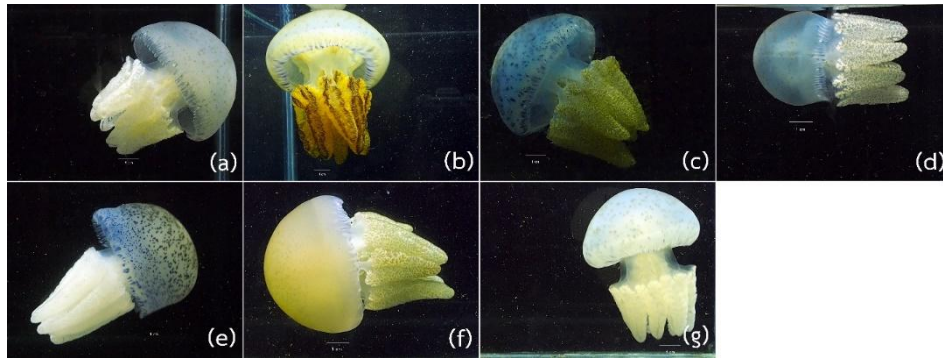


Figure 2 Seven groups of multi-colored jellyfish collected from their blooming area at Trat Province in October 2016: (a) Group A, (b) Group B, (c) Group C, (d) Group D, (e) Group E, (f) Group F, and (g) Group G (edited from Panithanarak and Taleb, 2017a). Classification follows the presence of color variations in jellyfish bodies and tentacles

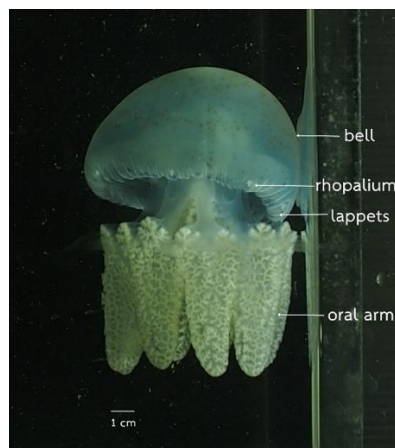


Figure 3 Morphological characteristics of multi-colored jellyfish

การสกัดดีเอ็นเอ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์

สกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อแมงกะพรุนโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อสัตว์ DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) วิธีการสกัดดีเอ็นเอให้ปฏิบัติตามเอกสารในชุดสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่สกัดไปเพิ่มปริมาณบริเวณยีน *COI* ในไมโทคอนเดรียซึ่งมีความเหมาะสมต่อการจำแนกชนิดสัตว์ในกลุ่มแมงกะพรุน (Holst and Laakmann, 2013) โดยใช้ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน *COI* ของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด (universal primers) ได้แก่ LCO1490 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' และ HCO2198 5'-TAACTTCAGGGTGCCAAAAATCA-3' (Folmer et al., 1994) การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ดัดแปลงจากการศึกษาโดย Holst and Laakmann (2013) ส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ได้แก่ 0.2 mM dNTP (Invitrogen, Waltham, Massachusetts, USA), 0.4 μ M primer (Macrogen, Inc., Seoul, South Korea) จำนวน 2 เส้น, 3 mM $MgCl_2$ (Invitrogen), 1xPCR buffer (Invitrogen), 1.25-unit platinum *Taq* DNA polymerase (Invitrogen) และ 1 μ g template DNA กระบวนการในปฏิกิริยา PCR ซึ่งอ้างอิงจากการศึกษาโดย Holst and Laakmann (2013) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ (1) การแยกสายดีเอ็นเอในช่วงเริ่มต้น (initial denaturation) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ (2) ขั้นตอนนี้ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนย่อย ได้แก่ การแยกสายดีเอ็นเอ (denaturation) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เวลา 45 วินาที การจับคู่ระหว่างไพรเมอร์กับดีเอ็นเอสายเดี่ยว (annealing) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เวลา 45 วินาที และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที 20 วินาที จำนวน 38 รอบ และ (3) การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอครั้งสุดท้าย (final extension) ที่ 72 องศาเซลเซียส เวลา 7 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากปฏิกิริยา PCR (PCR product) ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบเจลอะกาโรส (agarose gel electrophoresis) ขจัดสิ่งปนเปื้อนในผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ชุดทำผลผลิตพีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ QIAquick PCR purification kit (Qiagen) และส่งผลผลิตพีซีอาร์ที่บริสุทธิ์ (purified PCR product) ไปวิเคราะห์หา

ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี Sanger method ที่หน่วยบริการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์บริษัท Macrogen Inc. กรุงโซล สาธารณรัฐเกาหลี

การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

ตรวจสอบความถูกต้องของการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน COI ด้วยสายตา เปรียบเทียบและรวมผลการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์จากไพรเมอร์ LCO1490 และ HCO2198 ให้เป็นเส้นเดียว (sequence assembly) โดยใช้โปรแกรม CAP3 (Huang and Madan, 1999) เปรียบเทียบและจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MEGA12: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 12 (Kumar et al., 2024) และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์จากการศึกษานี้กับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTN (Altschul et al., 1990) ลำดับนิวคลีโอไทด์จากการศึกษานี้ทั้งหมดเก็บไว้ที่ฐานข้อมูล GenBank (accession numbers PV998005-PV99802) จากนั้นวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมโดยการจำแนกและเปรียบเทียบรูปแบบของลำดับนิวคลีโอไทด์ (haplotype) โดยใช้โปรแกรม DnaSP (DNA Sequence Polymorphism) v6.12.01 (Rozas et al., 2017)

การวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

คำนวณค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมงกะพรุน (pairwise genetic distance, distance measure = Kimura 2-parameter, K2P) โดยใช้โปรแกรม MEGA12 (Kumar et al., 2024) ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ประกอบด้วย ลำดับนิวคลีโอไทด์จากการศึกษานี้ จำนวน 18 ลำดับ และลำดับนิวคลีโอไทด์จากการอ้างอิง (reference sequence) จำนวน 29 ลำดับ ได้แก่ ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่คล้ายกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมงกะพรุนหลากหลายจากการเปรียบเทียบโดยใช้โปรแกรม BLASTN ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมงกะพรุนในสกุล *Catostylus* และแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ลำดับนิวคลีโอไทด์สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมงกะพรุนทางชนิด *Acromitus* sp. และ *A. flagellates* (accession numbers JX845351 และ OR230087 ตามลำดับ) เป็น outgroup เนื่องจากอยู่ในวงศ์ Catostylidae และมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับแมงกะพรุนในสกุล *Catostylus*

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี maximum likelihood (Sullivan, 2005) สร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) โดยใช้โมเดล Tamura 3-parameter (T92+I) (Tamura, 1992) ซึ่งเป็นโมเดลการแทนที่ของดีเอ็นเอ (DNA substitution) ที่มีความเหมาะสมกับข้อมูลมากที่สุด จากการวิเคราะห์ค่า Bayesian Information Criterion (BIC) ด้วยโปรแกรม MEGA12 (Kumar et al., 2024) และยืนยันความสัมพันธ์ในแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ด้วยวิธี bootstrap จำนวน 1,000 ครั้ง

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย เรื่อง “การจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากหลายที่พบบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด โดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและพันธุกรรม” ซึ่งได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์มหาวิทยาลัยบูรพา (หมายเลขใบรับรองที่ 74 – 78/2559)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตัวอย่างแมงกะพรุนหลากหลาย จำนวน 21 ตัวอย่าง มีเส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัวยาว 5.5-9.7 เซนติเมตร (ความยาวเฉลี่ย 8.53 ± 0.99 เซนติเมตร) และมีน้ำหนักเปียก 50.82-232.67 กรัม (น้ำหนักเฉลี่ย 174.31 ± 47.56 กรัม) การศึกษาลักษณะสัณฐานเบื้องต้นอ้างอิงจากคู่มือจำแนกชนิดโดย Mianzan and Cornelius (1999) พบว่าแมงกะพรุนที่มีความผันแปรของสีบริเวณลำตัวและหนวดทั้ง 7 กลุ่ม มีลักษณะสัณฐานคล้ายกัน ได้แก่ ลักษณะผิวด้านนอกของร่ม (exumbrella) ริ้วขอบร่ม (lappets) หนวดรอบปาก (oral arm) และระบบท่อที่เชื่อมต่อกันเป็นร่างแห (anastomosing canals) ภายในขอบร่ม จำแนกได้เป็นลำดับ Rhizostomeae ลำดับย่อย Dactylophorae วงศ์ Catostylidae สกุล *Catostylus* โดยมีลักษณะผิวด้านนอกของร่ม (exumbrella) เรียบไม่มีปุ่ม (granular) ร่มมีสีขาวและฟ้า และพบเม็ดสี (pigment) กระจายอยู่ทั่วไป (Figure 4a) ขอบร่มเป็นริ้ว (lappets) มีจำนวนริ้ว 8-12 ริ้ว ในแต่ละส่วน (octant, จากอวัยวะรับรู้ความรู้สึก (rhopalium) หนึ่งไปยังอีกอวัยวะรับรู้ความรู้สึกหนึ่ง) (Figure 4b and c) ไม่มีหนวดที่ขอบร่ม (marginal tentacle) ด้านล่างของร่มมีหนวด (oral arm) ลักษณะเหมือนยางคที่ยื่นออกมาจากตรงกลางของด้านล่างลำตัว (subumbrella) มีทั้งหมด 8 เส้น หนวดไม่มีช่องเปิดให้อาหารเข้า (scapulets) แต่มีช่องเปิดให้น้ำเข้าขนาดเล็ก (mouthlets) เรียงบนหนวด มีสีแตกต่างกัน ได้แก่ สีขาว ม่วง และค่อนข้างดำ มีช่องคล้ายท่อที่ขยายออกมาจากระบบย่อยและดูดซึมอาหารส่วนกลาง (radial canal) 16 ช่อง ออกมาจากท่อวงแหวนบริเวณขอบร่ม (primary ring

canal) และขยายไปถึงขอบของร่ม ระหว่างท่อ (canal) มีระบบท่อที่เชื่อมต่อกันเป็นร่างแห (anastomosing canals) อยู่ภายในขอบร่ม เป็นลักษณะเฉพาะของสกุล *Catostylus* (Mianzan and Cornelius, 1999) (Figure 4d)

การศึกษาลักษณะพื้นฐานที่จำเป็นต่อการจำแนกแมงกะพรุนในระดับชนิด ได้แก่ ความยาวของหนวกรอบปาก จำนวนและขนาดของริ้วขอบร่ม และรูปร่างของอวัยวะรับความรู้สึก (rhopalium) พบว่าแมงกะพรุนหลากสีมีความยาวของหนวกรอบปาก 2 ใน 3 ของเส้นผ่านศูนย์กลางลำตัว ริ้วขอบร่มยาวและมีจำนวนไม่แน่นอน อวัยวะรับความรู้สึก (rhopalium) มีรูปทรงรี ค่อนข้างกลม และพบการเชื่อมต่อของระบบท่อที่เชื่อมต่อกันเป็นร่างแห (anastomosing canals) มีการเชื่อมต่อโดยตรงกับท่อที่เชื่อมต่อกับอวัยวะรับความรู้สึก (rhopalar canal) และท่อวงแหวนบริเวณขอบร่ม (ring canal) ขนาดของช่องที่มีการเชื่อมต่อบริเวณระบบท่อระหว่างวงแหวน (intercircular) มีลักษณะคล้ายร่างแห มีขนาดใหญ่กว่าบริเวณระบบท่อภายนอกวงแหวน (extracircular) ที่มีช่องตาข่ายขนาดเล็กและละเอียด โดยลักษณะการเชื่อมต่อของระบบท่อที่เชื่อมต่อกันเป็นร่างแห (anastomosing canals) ที่พบในแมงกะพรุนหลากสีเป็นลักษณะเฉพาะของแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi*

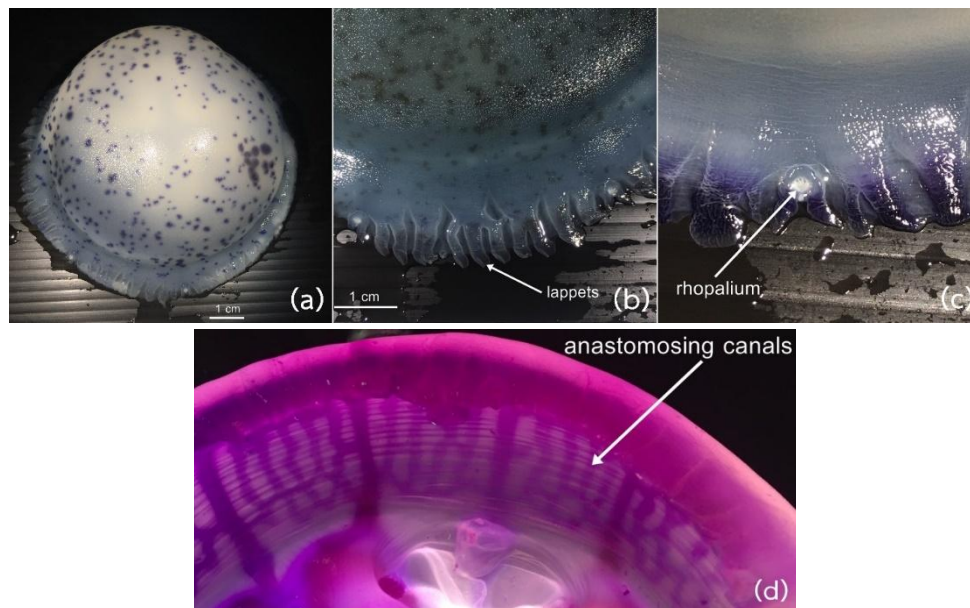


Figure 4 Morphological characteristics of jellyfish in the genus *Catostylus*: (a) umbrella, (b) lappets, (c) rhopalium, and (d) reticulate anastomosing canals (edited from Panithanarak and Taleb, 2017a)

จากการเปรียบเทียบขนาดของแมงกะพรุนหลากสีในการศึกษานี้กับแมงกะพรุนชนิด *C. mosaicus* และ *C. cruciatus* พบว่ามีขนาดเล็กกว่า (*C. mosaicus* และ *C. cruciatus* มีขนาด 25-35 เซนติเมตร และ 12-15 เซนติเมตร ตามลำดับ) (Kramp, 1961) แต่มีขนาดใกล้เคียงกับแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ที่พบบริเวณทะเลอันดามัน จังหวัดภูเก็ต และบริเวณชายฝั่งทะเลของอ่าวไทย (ความกว้างของร่ม 10 เซนติเมตร) (Marine and Coastal Resources, and Mangrove Research and Development Institute, 2015) และแมงกะพรุนหลากสีสกุล *Catostylus* ที่พบบริเวณคลองเขลาล้าน หาดราชนารุณย์ อำเภอมือง ไปจนถึงปากคลองอ่าวไม่รู้ต อำเภอกลองใหญ่ จังหวัดตราด (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัวเฉลี่ย 8.09 ± 0.91 เซนติเมตร) (Panithanarak and Taleb, 2017b) เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะพื้นฐาน ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัว (bell diameter) ลักษณะผิวด้านนอกของร่ม (exumbrella surface) ริ้วขอบร่ม (lappets) อวัยวะรับความรู้สึก (rhopalium) และหนวกรอบปาก (oral arm) ใน การศึกษานี้กับการศึกษาโดยสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน (Marine and Coastal Resources, and Mangrove Research and Development Institute, 2015) พบว่ามีความสอดคล้องกัน (Table 1) นอกจากนี้ แมงกะพรุนหลากสีในการศึกษานี้ยังมีลักษณะพื้นฐานที่จำเป็นต่อการจำแนกชนิดคล้ายคลึงกับแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ที่พบบริเวณตะวันออกของเมือง Surabaya ทะเลชาว ประเทศอินโดนีเซีย (Gómez-Daglio et al., 2022) (Table 1)

ความผันแปรของลักษณะทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *COI* ของแมงกะพรุนหลากสีจำนวน 18 ตัวอย่าง (ได้แก่ ตัวอย่าง A1-A3, B2-B3, C1-C3, D1-D2, E1-E2, F1-F3 และ G1-G3 สำหรับตัวอย่าง B1, D3 และ E3 ไม่ได้วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ เนื่องจากไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของทั้งสามตัวอย่างบริเวณยีน *COI* ได้) ซึ่งมีความยาว 688 คู่เบส จำแนกรูปแบบของลำดับนิวคลีโอไทด์ได้

8 รูปแบบ (8 haplotype, Hap1-Hap8) รูปแบบที่พบมากที่สุด (Hap4) สํารวจพบในแมงกะพรุน 8 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่าง B3, C2, D2, F1, F3, G1, G2 และ G3 รองลงมา คือ Hap2 สํารวจพบใน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่าง A2, B2, C3 และ F2 สํารับรูปแบบ Hap1, Hap3 และ Hap5 ถึง Hap8 สํารวจพบในแมงกะพรุน 1 ตัวอย่าง/รูปแบบ (haplotype) เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ ทั้ง 8 รูปแบบ (Table 2) พบลำดับนิวคลีโอไทด์มีความแตกต่างกันน้อย โดยมีตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ที่ต่างกัน 8 ตำแหน่ง เช่นเดียวกับความแตกต่างระหว่างคู่ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีค่าน้อย พบตำแหน่งของนิวคลีโอไทด์ที่ต่างกัน 1-3 ตำแหน่ง

Table 1 Diagnostic morphological characters of multi-colored jellyfish *Catostylus townsendi* comparing between this and previous studies: Marine and Coastal Resources, and Mangrove Research and Development Institute (2015) and Gómez-Daglio et al. (2022)

Diagnostic Characters	MCRMRI (2015)	Gómez-Daglio et al. (2022)	This study
Bell diameter (cm)	10	-	5.5-9.7
Exumbrella surface	fine granular with white, light yellow, brown, blue, purple and dark blue umbrella	fine granular with yellowish-brownish pigmented flecks	no granular with yellowish-bluish pigmented flecks, white and blue umbrella
Lappets	elongated lappets, uncertain number of lappets, no marginal tentacle	8-12 elongated lappets/octant, some bifurcated, no marginal tentacle	8-12 elongated lappets/octant, uncertain number of lappets, no marginal tentacle
Rhopalium	small and oval shape	small and round shape	small and slightly oval shape
Oral arms	8 oral arms, two-thirds of the bell diameter length, conical shape with a point end	three-winged with no filaments or terminal clubs	8 oral arms, two-thirds of bell diameter length, conical shape with pointed end, no scapulets on oral arms, but small mouthlets presence with white, purple and near-black colors

MCRMRI (2015): Marine and Coastal Resources, and Mangrove Research and Development Institute (2015)

การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์จากการศึกษานี้กับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank พบว่าแมงกะพรุนหลากสีมีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายกันกับแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* มากที่สุด (accession number NC_061766) มีค่าความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (Percent Identity) 97.64-97.94% การยืนยันการจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากสีโดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *COI* สอดคล้องกับการจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะสัณฐาน นั่นคือ แมงกะพรุนหลากสีทั้งหมดเป็นชนิดเดียวกัน โดยความผันแปรของสีที่พบบนลำตัวและหนวดของแมงกะพรุนทั้ง 7 กลุ่ม ไม่ได้แสดงถึงความแตกต่างระหว่างชนิด แต่แสดงถึงความหลากหลายของลักษณะสัณฐานที่พบในแมงกะพรุนชนิดเดียวกัน ความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์มีค่าน้อยและไม่สอดคล้องกับความหลากหลายของสีที่พบบนลำตัวและหนวดของแมงกะพรุน ยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงสาเหตุที่พบความผันแปรของสีบริเวณลำตัวและหนวดของแมงกะพรุนหลากสี *C. townsendi* อย่างไรก็ตาม ความหลากหลายของสีในแมงกะพรุนชนิดนี้น่าจะเกิดจากเม็ดสี (pigment) ที่ผลิตจากตัวแมงกะพรุนเอง เช่น แมงกะพรุนชนิด *C. mosaicus* (Richmond, 1997) หรือเกิดจากเม็ดสีของสาหร่ายซูแซนเทลลี (zooxanthellae) ที่อาศัยอยู่ร่วมกับแมงกะพรุนและมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis relationship) เช่น แมงกะพรุนชนิด *Mastigias papua* (Hamaguchi et al., 2021)

Table 2 Polymorphic sites at the *COI* gene comparing among multi-colored jellyfish haplotypes (Hap1 to Hap8). Numbers refer to nucleotide positions (688 bp). Each nucleotide identical to Hap1 is denoted as “.”

Haplotype	Nucleotide Position							
	0	0	0	1	2	2	3	6
	2	9	9	8	4	6	3	6
	4	0	9	6	0	7	0	6
Hap1	C	A	A	C	T	T	T	C
Hap2	T	G	.	.	.	.	.	.
Hap3	.	G	.	.	.	C	.	T
Hap4	.	G	.	.	.	.	.	.
Hap5	T	G	.	.	C	.	.	.
Hap6	.	G	G	.	.	.	.	.
Hap7	.	G	.	T	.	.	C	.
Hap8	.	.	.	T	.	.	.	.

ระยะห่างทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

การวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างคู่ของลำดับนิวคลีโอไทด์ พบระยะห่างทางพันธุกรรม (distance measure: Kimura 2-parameter, K2P) ภายในแมงกะพรุนชนิดเดียวกันมีค่าน้อย โดยมีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ $0.15 \pm 0.08\%$ ถึง $1.98 \pm 0.40\%$ (แมงกะพรุนหลากสี *C. townsendi* ในการศึกษา: $0.19 \pm 0.09\%$ แมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* (อินโดนีเซีย): $0.32 \pm 0.17\%$ แมงกะพรุนชนิด *C. mosaicus*: $1.98 \pm 0.40\%$ แมงกะพรุนชนิด *Crambionella orsini*: $0.15 \pm 0.08\%$ และแมงกะพรุนชนิด *Crambionella helmbirui*: $0.29 \pm 0.16\%$) (Table 3) ในทางตรงกันข้าม ระยะห่างทางพันธุกรรม (K2P) ระหว่างแมงกะพรุนต่างชนิดมีค่ามาก โดยมีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ $14.10 \pm 1.76\%$ ถึง $20.14 \pm 1.96\%$ (Table 3) ยกเว้นระยะห่างทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ที่พบในบริเวณต่างกัน คือ บริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดตราด ประเทศไทย และน่านน้ำอินโดนีเซีย ซึ่งมีค่าสูง ($17.02 \pm 1.87\%$, Table 3) เทียบเท่ากับค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิด

Table 3 Mean genetic distances ($\pm$ SD) within and between jellyfish species (Family Catostylidae, (1) *Catostylus townsendi* (IND) (n = 5), (2) *Catostylus mosaicus* (n = 10), (3) *Crambionella orsini* (n = 7), (4) *Crambionella helmbirui* (n = 5), and (5) *Catostylus townsendi* (THA) (n = 18)). The values were calculated based on a Kimura 2-parameter model and were shown as percentages (%). Intraspecific genetic distances were highlighted in bold. IND and THA refer to Indonesia and Thailand, respectively

	1	2	3	4	5
1. <i>Catostylus townsendi</i> (IND)	0.32 ± 0.17				
2. <i>Catostylus mosaicus</i>	15.59 ± 1.72	1.98 ± 0.40			
3. <i>Crambionella orsini</i>	19.04 ± 2.07	19.22 ± 1.98	0.15 ± 0.08		
4. <i>Crambionella helmbirui</i>	20.04 ± 2.13	20.14 ± 1.96	14.10 ± 1.76	0.29 ± 0.16	
5. <i>Catostylus townsendi</i> (THA)	17.02 ± 1.87	18.51 ± 1.92	17.08 ± 1.87	17.64 ± 1.91	0.19 ± 0.09

ค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสี *C. townsendi* จากการศึกษา (0.19±0.09%, Table 3) มีค่าสอดคล้องกับค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากสี *Catostylus* sp. จากการศึกษาเบื้องต้นโดย Panithanarak and Taleb (2017b) ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-0.75% และสอดคล้องกับระยะห่างทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนในสกุลอื่นที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ เช่น แมงกะพรุนชนิด *Cyanea lamarckii* และ *Cyanea capillata* ซึ่งมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่าง 0-0.3% และ 0-1.5% ตามลำดับ (Holst and Laakmann, 2013)

ในทำนองเดียวกัน ค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างแมงกะพรุนต่างชนิดในการศึกษานี้ (ตั้งแต่ $14.10 \pm 1.76\%$ ถึง $20.14 \pm 1.96\%$, Table 3) มีค่าสอดคล้องกับค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างแมงกะพรุนชนิด *Cyanea lamarckii* และ *Cyanea capillata* ซึ่งมีค่าระหว่าง $15.5-17.0\%$ (Holst and Laakmann, 2013) ยีน COI ในไมโทคอนเดรียถูกนำไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย โดยการเป็น DNA barcode หรือลำดับนิวคลีโอไทด์มาตรฐานที่มีขนาดสั้นสำหรับระบุชนิดของสัตว์หลายกลุ่ม เนื่องจากคุณสมบัติของยีน COI ที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงระหว่างชนิด (high interspecific variation) ตรงกันข้ามกับความแปรปรวนทางพันธุกรรมต่ำภายในชนิด (low intraspecific variation) ทำให้การระบุชนิดทำได้ชัดเจนและแม่นยำ (Hebert et al., 2003) ซึ่งยืนยันถึงประโยชน์และประสิทธิภาพของยีน COI ในการจัดจำแนกชนิดสัตว์ รวมถึงสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่มแมงกะพรุน (Class Scyphozoa) เช่นเดียวกับการศึกษาที่มีมาก่อนหน้านี้ (Holland et al., 2004; Dawson, 2005; Bayha and Dawson, 2010; Rizman-Idid et al., 2016)

แมงกะพรุน *C. townsendi* จากการศึกษานี้ น่าจะเป็นคนละชนิดกับแมงกะพรุน *C. townsendi* ที่พบในน่านน้ำของประเทศอินโดนีเซีย เนื่องจากมีค่าเฉลี่ยของระยะห่างทางพันธุกรรมสูง สอดคล้องกับค่าระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างแมงกะพรุนต่างชนิด ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วแมงกะพรุนต่างชนิดกันจะมีค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (K2P) ตั้งแต่ 6% ขึ้นไป (Abboud et al., 2018) แต่จากการศึกษาลักษณะสัณฐานของแมงกะพรุน *C. townsendi* ที่พบบริเวณตะวันออกของเมือง Surabaya ทะเลชาวประเทศอินโดนีเซีย โดย Gómez-Daglio et al. (2022) พบว่ามีลักษณะสัณฐานคล้ายกับแมงกะพรุนหลากหลายชนิด *C. townsendi* ในการศึกษา จึงมีความเป็นไปได้ว่า มีการเกิดชนิดซ่อนเร้น (cryptic species) ซึ่งมีลักษณะสัณฐานไม่ต่างกัน แต่พบความแตกต่างทางพันธุกรรมสูง ภายในขอบเขตการแพร่กระจายของแมงกะพรุนชนิดนี้ โดยพื้นที่ซึ่งมีรายงานว่าพบแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ได้แก่ กลุ่มของหมู่เกาะบริเวณมหาสมุทรอินเดียและมหาสมุทรแปซิฟิก ระหว่างเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และออสเตรเลีย มหาสมุทรในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และอินโดนีเซีย (Stiasny, 1921; Ranson, 1949; Rizman-Idid et al., 2016) จากการศึกษาที่ผ่านมาที่มีการค้นพบชนิดซ่อนเร้นในสัตว์กลุ่มแมงกะพรุน จากการศึกษาทางอนุพันธุศาสตร์ เช่น ในแมงกะพรุนสกุล *Aurelia* (Moon Jellyfish, แมงกะพรุนพระจันทร์) พบว่าแมงกะพรุนในกลุ่มนี้มีความหลากหลายของชนิดสูงและมีการแพร่กระจายอย่างจำกัด (Dawson and Jacobs, 2001; Dong et al., 2015; Lawley et al., 2021) แมงกะพรุนในสกุล *Cassiopea* (Upside-Down Jellyfish, แมงกะพรุนกลับหัว) ซึ่งมีการแพร่กระจายไปทั่วโลกและมีชนิดที่จำแนกตามลักษณะสัณฐานไม่กี่ชนิด แต่พบความแตกต่างทางพันธุกรรมสูงภายในแมงกะพรุนชนิด *Cassiopea andromeda* (ระยะห่างทางพันธุกรรม (K2P) 23.4%) (Holland et al., 2004) และแมงกะพรุนในสกุล *Phacellophora* (Fried Egg Jellyfish, แมงกะพรุนไข่ดาว) โดยเฉพาะชนิด *Phacellophora camtschatica* ซึ่งเคยเชื่อว่าเป็นแมงกะพรุนชนิดเดียวที่มีการแพร่กระจายสูงบริเวณมหาสมุทรแปซิฟิกตอนเหนือและมหาสมุทรแอตแลนติก แต่ในปัจจุบันพบหลักฐานการเกิดชนิดซ่อนเร้น และสามารถระบุชนิดได้อย่างน้อยสามชนิด (ระยะห่างทางพันธุกรรม (K2P) 3.4-11.5%) (Moura et al., 2022) ปัจจัยที่ทำให้เกิดชนิดซ่อนเร้น (ลักษณะสัณฐานไม่ต่างกัน แต่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูง) ในแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ที่พบบริเวณทะเลจีนใต้และน่านน้ำอินโดนีเซีย อาจเนื่องมาจากการวิวัฒนาการของประชากรที่แยกจากกันมาเป็นระยะเวลานานตั้งแต่การลดระดับน้ำทะเล (120 เมตรจากระดับน้ำทะเลในปัจจุบัน) ในยุคไพลสโตซีน (Pleistocene, 2.4 ล้านปี-10,000 ปี) ทำให้บริเวณตอนใต้ของทะเลจีนใต้ อ่าวไทย และทะเลชวา (Sunda Shelf) ซึ่งเป็นทะเลในเขตนํ้าตื้นชายฝั่งไหล่นํ้า เกิดการแยกตัวของแอ่งมหาสมุทรตลอดภูมิภาคอินโด-มลายู (Voris, 2000) ซึ่งกีดขวางการแลกเปลี่ยนของยีนระหว่างประชากรที่อาศัยบริเวณทะเลจีนใต้กับพื้นที่อื่น ๆ โดยรอบ โดยความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรที่อาศัยบริเวณทะเลจีนใต้และน่านน้ำอินโดนีเซียมีรายงานในสัตว์ทะเลหลายชนิด เช่น ม้านํ้าดำ *Hippocampus kuda* (Lourie et al., 2005) หอยมุก *Pinctada maxima* (Lind et al., 2012) และปลากระพง *Lutjanus bengalensis* (Rahayu et al., 2024) เป็นต้น

การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการบริเวณยีน COI ระหว่างแมงกะพรุนหลากหลายชนิด *C. townsendi* จากชายฝั่งทะเลจังหวัดตราด ประเทศไทย (accession numbers PV998005-PV998022) และแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* รวมถึงชนิดอื่นในวงศ์ Catostylidae ที่พบลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายกันกับแมงกะพรุนหลากหลายชนิดโดยการสืบค้นจากฐานข้อมูล GenBank ได้แก่ *C. townsendi* จาก Yangxi Donghai Sea บริเวณตะวันออกของทะเลจีนใต้ ประเทศจีน (accession number NC_061766) *C. townsendi* จากน่านน้ำอินโดนีเซีย (Surabaya, Java Sea, Banda Sea และ Arafura Sea) (accession numbers MF742234-MF742236 และ MN395693-MN395694) *Catostylus* sp. (accession number MZ028020) *C. mosaicus* จากประเทศออสเตรเลียและมหาสมุทรแปซิฟิก (accession numbers AY737185, AY737194, AY737198, AY737210, AY737215, AY737227, AY737238, HF548537-HF548538 และ HF968747) *Crambionella helmbirui* จากเกาะชวาทอนกลาง มหาสมุทรอินเดีย (accession numbers AB820008- AB820012) และ *Crambionella orsini* จากประเทศอิหร่านและอินเดีย (accession

numbers EU363343-EU363344 และ MH571745-MH571749]] โดยการสร้างแผนผังความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแบบ maximum likelihood และใช้โมเดล Tamura 3-parameter (T92+I) (Tamura, 1992) ซึ่งเป็นโมเดลการแทนที่ของดีเอ็นเอที่มีความเหมาะสมกับข้อมูลมากที่สุด จากการวิเคราะห์ค่า Bayesian Information Criterion (BIC) ด้วยโปรแกรม MEGA12 โดยมีแมงกะพรุนหางขนชนิด *Acromitus* sp. และ *A. flagellates* (accession numbers JX845351 และ OR230087 ตามลำดับ) เป็น outgroup พบว่า แมงกะพรุนหลากหลาย *C. townsendi* จากชายฝั่งทะเลจังหวัดตราด ประเทศไทย จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* จากบริเวณตะวันออกของทะเลจีนใต้ ประเทศจีน และแมงกะพรุนชนิด *Catostylus* sp. (Figure 5) และแยกจากกลุ่มของแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* จากน่านน้ำอินโดนีเซีย และแมงกะพรุนชนิดอื่นในวงศ์ Catostylidae ด้วยค่าความเชื่อมั่นสูง (bootstrap support 100%, Figure 5) โดยภาพรวม การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของแมงกะพรุนในแผนผัง สอดคล้องกับชนิดของแมงกะพรุน โดยมีค่าความเชื่อมั่นสูง (bootstrap support 93-100%, Figure 5) ยกเว้นการจัดกลุ่มของแมงกะพรุนหลากหลาย *C. townsendi* จากชายฝั่งทะเลจังหวัดตราด ประเทศไทย และแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* จากน่านน้ำอินโดนีเซีย (bootstrap support 99% และ 100% ตามลำดับ, Figure 5) ผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการสอดคล้องกับการศึกษาระยะห่างทางพันธุกรรม ซึ่งยืนยันการจัดจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากหลายว่าเป็นชนิด *C. townsendi* และน่าจะเป็นคนละชนิด (cryptic species, ชนิดซ่อนเร้น) กับแมงกะพรุน *C. townsendi* ที่พบบริเวณน่านน้ำของประเทศอินโดนีเซีย

การศึกษาวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานที่จำเป็นต่อการจำแนกชนิดแมงกะพรุน และการศึกษาข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI รวมถึงการตรวจสอบระยะห่างทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของแมงกะพรุนหลากหลายในการศึกษานี้สามารถยืนยันการระบุชนิดที่ถูกต้องของแมงกะพรุนหลากหลายที่พบสะพรั่งบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด เป็นประจำทุกปี ผลการศึกษาสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมมีความสอดคล้องกัน และชี้ให้เห็นว่าแมงกะพรุนหลากหลายเป็นชนิด *C. townsendi* และจัดอยู่ในกลุ่มวิวัฒนาการเดียวกัน (phylogenetic clade) กับแมงกะพรุนชนิดนี้ที่พบบริเวณตะวันออกของทะเลจีนใต้ นอกจากนี้แล้ว ผลการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานและความแตกต่างทางพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากหลาย *C. townsendi* เปรียบเทียบกับแมงกะพรุนชนิดเดียวกันจากน่านน้ำอินโดนีเซีย ยังแสดงให้เห็นความเป็นไปได้ของการเกิดความหลากหลายของชนิดซ่อนเร้นในแมงกะพรุนชนิด *C. townsendi* ซึ่งมีรายงานการพบแพร่กระจายเป็นบริเวณกว้างตั้งแต่หมู่เกาะของมหาสมุทรอินเดียและแปซิฟิก ระหว่างภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และออสเตรเลีย มหาสมุทรในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และน่านน้ำอินโดนีเซีย (Stiasny, 1921; Ranson, 1949; Rizman-Idid et al., 2016) ข้อมูลอนุกรมวิธานที่ถูกต้องของแมงกะพรุนหลากหลายจากการศึกษานี้ เป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญต่อการติดตามตรวจสอบความหนาแน่นและการแพร่กระจายของแมงกะพรุน รวมไปถึงการเฝ้าระวังปรากฏการณ์การสะพรั่งของแมงกะพรุน เพื่อการป้องกันและบรรเทาผลกระทบของปรากฏการณ์ต่อการท่องเที่ยวทางทะเล การประมงชายฝั่ง และอุตสาหกรรมโรงไฟฟ้า นอกจากนี้แล้วการค้นพบชนิดซ่อนเร้นในแมงกะพรุน *C. townsendi* ยังมีความสำคัญต่อการประเมินความหลากหลายทางชีวภาพ การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยอาศัยข้อมูลทางภูมิศาสตร์ ชีววิทยาวิวัฒนาการ การศึกษาเชิงนิเวศ การอนุรักษ์ทรัพยากรทางชีวภาพ และการคุกคามทางชีวภาพ (Dawson and Jacobs, 2001; Holland et al., 2004; Dong et al., 2015; Lawley et al., 2021) การบูรณาการวิธีการทางอนุกรมวิธานซึ่งประกอบไปด้วยข้อมูลทางอนุพันธุศาสตร์ พร้อมการทบทวนลักษณะสัณฐาน ข้อมูลทางนิเวศวิทยา และข้อมูลการแพร่กระจายตามสภาพภูมิศาสตร์ มีความจำเป็นต่อการระบุชนิดแมงกะพรุนอย่างถูกต้องและแม่นยำ ทั้งนี้เพื่อการแก้ปัญหาและอุปสรรคจากการจำแนกชนิดแมงกะพรุนโดยวิธีการทางอนุกรมวิธานในปัจจุบัน และความเข้าใจสัตว์ในกลุ่มนี้ซึ่งมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ (Lawley et al., 2021; Moura et al., 2022)

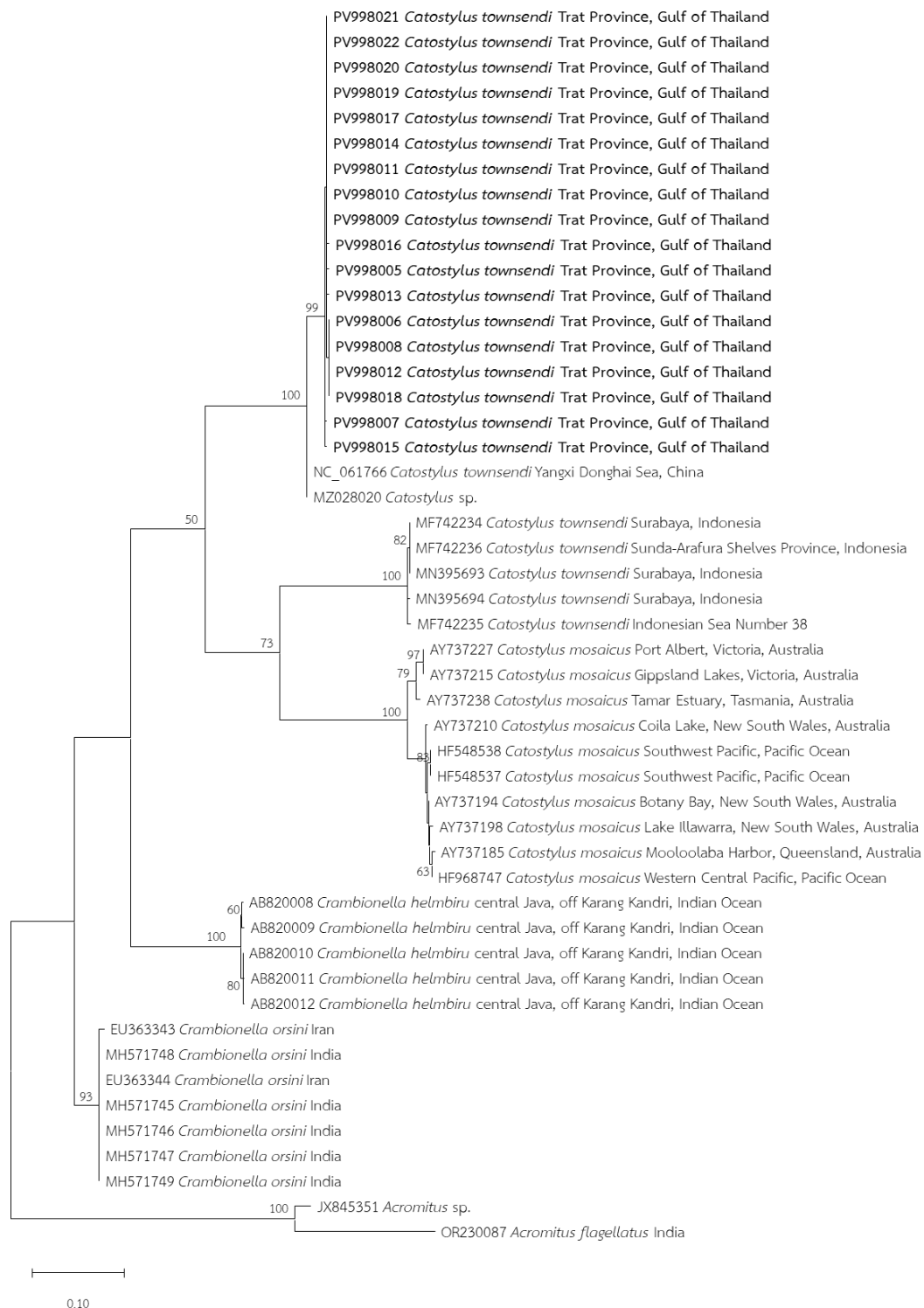


Figure 5 Maximum likelihood phylogenetic tree of multi-colored jellyfish *Catostylus townsendi* in this study (highlighted in bold) and closely related jellyfish reference sequences (annotated with GenBank accession numbers followed by species names and/or collection sites). The phylogenetic tree based on the *COI* gene was constructed using T92+I model and rooted with *Acromitus* sp. and *A. flagellatus*. Bootstrap values greater than 50% were shown. A scale bar indicates evolutionary divergence between taxa

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานของแมงกะพรุนหลากหลายที่พบมีการสะพรั่งเป็นประจำทุกปี บริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *COI* ในไมโทคอนเดรีย ซึ่งให้เห็นว่าแมงกะพรุนที่พบมีความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์และหมวดทั้ง 7 กลุ่ม มีลักษณะของสัณฐานคล้ายกัน จัดอยู่ในสกุล *Catostylus* ชนิด *C. townsendi* สอดคล้องกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *COI* ซึ่งพบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์น้อย เช่นเดียวกับ ผลการวิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการซึ่งยืนยันว่าแมงกะพรุนหลากหลายที่พบสะพรั่งบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด เป็นชนิด *C. townsendi* การตรวจสอบความเชื่อมโยงของพันธุกรรมของแมงกะพรุนหลากหลายชนิดนี้กับแมงกะพรุนชนิดเดียวกันที่พบในพื้นที่อื่น พบว่าแมงกะพรุนหลากหลายชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเดียวกันกับแมงกะพรุนชนิดเดียวกันจากบริเวณตะวันออกของทะเลจีนใต้ แต่แยกจากกลุ่มของแมงกะพรุนชนิดเดียวกันที่พบบริเวณน่านน้ำอินโดนีเซีย แม้ว่าจะมีลักษณะสัณฐานไม่ต่างกัน ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการเกิดชนิดซ้อนเร้นภายในขอบเขตการแพร่กระจายของ *C. townsendi* ซึ่งมีความสำคัญต่อการประเมินความหลากหลายทางชีวภาพ ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยอาศัยข้อมูลทางภูมิศาสตร์ ชีววิทยาวิวัฒนาการ นิเวศวิทยา การอนุรักษ์ทรัพยากรทางชีวภาพ และการคุกคามทางชีวภาพ

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย เรื่อง “การจำแนกชนิดแมงกะพรุนหลากหลายที่พบบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราดโดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและพันธุกรรม” ภายใต้แผนงานวิจัย เรื่อง “ศึกษาการเกิดปรากฏการณ์แมงกะพรุนหลากหลายบริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดตราด” ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 9/2559

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่มและสมมุติฐาน การปฏิบัติการวิจัย การมีส่วนร่วมในการออกแบบการทดลอง การทดสอบ เครื่องมือวัด วิธีการเก็บข้อมูลและ criteria การจัดเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผล การมีส่วนร่วมในการเขียนต้นฉบับบทความ การให้การสนับสนุนเครื่องมือ ห้องปฏิบัติการและครุภัณฑ์: ทรรดิน ปณิธานะรักษ์, สุพัตรา ตะเหลบ. การวิพากษ์วิจารณ์ผล การแสดง การเปรียบเทียบกับข้อสรุปหรือองค์ความรู้ หรือทฤษฎีเดิม: ทรรดิน ปณิธานะรักษ์.

เอกสารอ้างอิง

- Abboud, S. S., Gómez-Daglio, L., & Dawson, M. N. (2018). A global estimate of genetic and geographic differentiation in macromedusae-implications for identifying the causes of jellyfish blooms. *Marine Ecology Progress Series*, 591(1), 199-216. <https://doi.org/10.3354/meps12521>
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403-410.
- Bayha, K. M., & Dawson, M. N. (2010). New family of allomorphic jellyfishes, Drymonematidae (Scyphozoa, Discomedusae), emphasizes evolution in the functional morphology and trophic ecology of gelatinous zooplankton. *Biological Bulletin*, 219(1), 249-267.
- Browne, J. G., & Kingsford, M. J. (2005). A commensal relationship between the scyphozoan medusae *Catostylus mosaicus* and the copepod *Paramacrochiron maximum*. *Marine Biology*, 146(6), 1157-1168.
- Dawson, M. N. (2005). *Cyanea capillata* is not a cosmopolitan jellyfish, morphological and molecular evidence for *C. annaskala* and *C. rosea* (Scyphozoa: Semaestomeae: Cyaneidae) in south-eastern Australia. *Invertebrate Systematics*, 19(4), 361-370.
- Dawson, M. N., & Jacobs, D. K. (2001). Molecular evidence for cryptic species of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa). *Biological Bulletin*, 200(1), 92-96.
- Dong, Z., Liu, Z., & Liu, D. (2015). Genetic characterization of the scyphozoan jellyfish *Aurelia* spp. in Chinese coastal waters using mitochondrial markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 60(1), 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.02.018>.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.

- Gómez-Daglio, L., Hayati, R., Coleman, T., Han, Y.-M., Muzaki, F., Aunurohim, de Bellard, M. E., & Saptarini, D. (2022). Species composition of Discomedusae jellyfish (Scyphozoa) in the coastal waters of Eastern Surabaya, East Java. **Marine Biodiversity**, 52(1), 23. <https://doi.org/10.1007/s12526-021-01253-1>.
- Hamaguchi, Y., Iida, A., Nishikawa, J., & Hirose, E. (2021). Umbrella of *Mastigias papua* (Scyphozoa: Rhizostomeae: Mastigiidae): hardness and cytomorphology with remarks on colors. **Plankton and Benthos Research**, 16(3), 221-227. <https://doi.org/10.3800/pbr.16.221>.
- Hashim, A. R., Kamaruddin, S. A., Buyong, F., Nazir, E. N. M., Che Ismail, C.-Z., Tajam, J., Abdullah, A. L., Azis, T. M. F., & Anscelly, A. (2023). Jellyfish blooming: Are we responsible? In **Proceedings of ICAN International Virtual Conference 2022 (IIVC2022)**, pp. 51-60. Universiti Teknologi MARA.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. In **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 270(1512), 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.
- Holst, S., & Laakmann, S. (2013). Morphological and molecular discrimination of two closely related jellyfish species, *Cyanea capillata* and *C. lamarckii* (Cnidaria, Scyphozoa), from the northeast Atlantic. **Journal of Plankton Research**, 36(1), 48-63. <http://doi.org/10.1093/plankt/fbt093>.
- Holland, B. S., Dawson, M. N., Crow, G. L., & Hofmann, D. K. (2004). Global phylogeography of *Cassiopea* (Scyphozoa: Rhizostomeae): molecular evidence for cryptic species and multiple invasions of the Hawaiian Islands. **Marine Biology**, 145(1), 1119–1128. <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1409-4>.
- Huang, X., & Madan, A. (1999). CAP3: A DNA sequence assembly program. **Genome Research**, 9(1), 868-877.
- Kramp, P. L. (1961). Synopsis of the medusae of the world. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 40(1), 7-382.
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular evolutionary genetic analysis version 12 for adaptive and green computing. **Molecular Biology and Evolution**, 41(12), msae263. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>.
- Lawley, J. W., Gamero-Mora, E., Maronna, M. M., Chiaverano, L. M., Stampar, S. N., Hopcroft, R. R., Collins, A. G., & Morandini, A. C. (2021). The importance of molecular characters when morphological variability hinders diagnosability: systematics of the moon jellyfish genus *Aurelia* (Cnidaria: Scyphozoa). **PeerJ**, 9(1), e11954. <https://doi.org/10.7717/peerj.11954>.
- Lind, C. E., Evans, B. S., Elphinstone, M. S., Taylor, J. J. U., & Jerry, D. R. (2012). Phylogeography of a pearl oyster (*Pinctada maxima*) across the Indo-Australian Archipelago: evidence of strong regional structure and population expansions but no phylogenetic breaks. **Biological Journal of the Linnean Society**, 107(3), 632–646. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.01960.x>.
- Lourie, S. A., Green, D. M., & Vincent, A. C. J. (2005). Dispersal, habitat differences, and comparative phylogeography of Southeast Asian seahorses (Syngnathidae: *Hippocampus*). **Molecular Ecology**, 14(4), 1073-1094.
- Lynam, C. P., Gibbons, J., Axelsen, B. E., Sparks, C. A. J., Coetzee, J., Heywood, B. G., & Brierley, A. S. (2006). Jellyfish overtake fish in a heavily fished ecosystem. **Current Biology**, 16(19), R492-R493.
- Marine and Coastal Resources, and Mangrove Research and Development Institute. (2015). **A Study Guide of Jellyfish Diversity in Thai Waters**. Department of Marine and Coastal Resources. (in Thai).
- MGR Online. (2013). **Thousands of Remarkable Colorful Jellyfish Floating on the Water Surface in Trat Province**. Retrieved from: <https://mgronline.com/travel/detail/9560000134387>. (in Thai).
- Mianzan, H. W., & Cornelius, P. (1999). Cubomedusae and Scyphomedusae. In Boltovskoy, D. (Ed.), **South Atlantic Zooplankton, Volume 1**, pp. 513-559. Backhuys.
- Moura, C. J., Ropa, N., Magalhães, B. I., & Gonçalves, J. M. (2022). Insight into the cryptic diversity and phylogeography of the peculiar fried egg jellyfish *Phacellophora* (Cnidaria, Scyphozoa, Ulmaridae). **PeerJ**, 10(1), e13125. <https://doi.org/10.7717/peerj.13125>.
- Nation Thailand. (2024). **Multi-coloured Jellyfish are the Talk of the Town in Trat Province**. Retrieved from: <https://www.nationthailand.com/blogs/life/travel/40042062/>.
- Panithanarak, T., & Taleb, S. (2017a). **Identification of Colorful Jellyfish in the Coast of Trat Province based on Morphological and Genetic Data**. (BUU Publication No.2562_012). Burapha University. (in Thai).
- Panithanarak, T., & Taleb, S. (2017b). Morphology and genetic variation of colorful jellyfish in the coast of Trat Province. In **Proceedings of the 8th Algae and Plankton National Conference**, pp. 153-163. Burapha University. (in Thai).
- Pattaya Mail. (2024). **Tourists Flock to see Colorful Jellyfish in Ban Khlong Son Beach, Trat Province**. Retrieved from: <https://www.pattayamail.com/latestnews/news/tourists-flock-to-see-colorful-jellyfish-in-ban-khlong-son-beach-trat-boosting-local-incomes-474855>.
- Purcell, J. E., Uye, S.-I., & Lo, W.-T. (2007). Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. **Marine Ecology Progress Series**, 350(1), 153-174.

- Rahayu, S. R., Muchlisin Zainal, A., Fadli, N., Rizal, S., Raza, I., Lazuardi, M. I., Razi, N. M., Handayani, L. S., & Nur Firman, M. (2024). Phylogeography pattern of *Lutjanus bengalensis* (bloch, 1790) in Indonesia waters and South China Sea. **BIO Web of Conferences**, 87(1), 03031. <http://doi.org/10.1051/bioconf/20248703031>.
- Ranson, G. (1949). Resultats Scientifiques des Croisieres du Navire-ecole Belge "Mercator" Meduses. **Mem Mus Royal d'histoire naturelle de Belgique**, 33(2), 121–158.
- Richardson, A. J., Bakun, A., Hays, G. C., & Gibbons, M. J. (2009). The jellyfish joyride: causes, consequences and management responses to a more gelatinous future. **Trends in Ecology and Evolution**, 24(6), 312–322.
- Richmond, M. (1997). **A Guide to the Seashores of Eastern Africa and the Western Indian Ocean Islands**. Sida/Department for Research Cooperation, SAREC.
- Rizman-Idid, M., Farrah-Azwa, A. B., & Chong, V. C. (2016). Preliminary taxonomic survey and molecular documentation of jellyfish species (Cnidaria: Scyphozoa and Cubozoa) in Malaysia. **Zoological Studies**, 55(1), e35. <https://doi.org/10.6620/ZS.2016.55-35>.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP v6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets. **Molecular Biology and Evolution**, 34(12), 3299–3302.
- Stiasny, G. (1921). Mittheilungen uber Scyphomedusen I. **Zoologische mededeelingen**, 6(12), 109–114.
- Sullivan, J. (2005). Maximum-likelihood methods for phylogeny estimation. **Methods in Enzymology**, 395(1), 757–779. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)95039-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)95039-8).
- Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+C-content biases. **Molecular Biology and Evolution**, 9(4), 678–687. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752>
- TNA. (2024). **A Million Colorful Jellyfish Draw Tourists to Trat Province**. Retrieved from: <https://today.line.me/th/v3/article/eLg8njg>. (in Thai).
- Voris, H. K. (2000). Maps of Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river systems and time durations. **Journal of Biogeography**, 27(5), 1153–1167.
- WoRMS Editorial Board. (2025). **WoRMS Taxon Details: *Catostylus Agassiz, 1862***. Retrieved from: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=135254>.