รายงานการวิจัย

ประจำปีงบประมาณ 2561

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

โครงการการชะลอการเจริญของของลูกอ๊อดกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* ในภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับฟาร์ม ปีที่ 2

Developmental retarding on *Hoplobatrachus rugulosus* tadpoles at low temperature condition in farming scale Year II

ผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.วิเชฏฐ์ คนซื่อ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่แล้วเสร็จ

พุทธศักราช 2562

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2561 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

การศึกษาการชะลอการเจริญของของลูกอ๊อดกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* ในภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับฟาร์มการเลี้ยงลูกอ๊อดในภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับฟาร์มเพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญต่อของลูกอ๊อดกบนาภายหลังจากการได้รับอุณหภูมิต่ำช่วงหนึ่งของระยะลูกอ๊อดในระดับฟาร์มและศึกษาขนาดของกบนาหลังจากการเจริญเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระยะลูกอ๊อด ด้วยการเลี้ยงลูกอ๊อดในสภาพปกติ (แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิเฉลี่ย35 องศาเซลเซียส) และในสภาพอุณหภูมิต่ำ (ห้องมืด-แสงสีแดงและอุณหภูมิเฉลี่ย 25 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ จากระยะการเจริญ (Gosner stage, 1690) ระยะที่ 26-27 จนเป็นตัวสำเร็จ (complete metamorphosis) พบว่าลูกอ๊อดที่เลี้ยงในสภาพอุณหภูมิต่ำมีระยะเวลาการพัฒนาและขนาดไม่แตกต่างจากลูกอ๊อดที่เลี้ยงในสภาพปกติ

คำสำคัญ : ลูกอ๊อด การลี้ยงกบนา ระยะการเจริญ ระดับฟาร์ม

Abstract

Low temperature was used to study growth retardation effect on East Asian bullfrog tadpoles (*Hoplobatrachusrugulosus*)at farm level. The experiment was carried out to study growth rate of the tadpoles after being exposed to low temperature for a specific period as well as the size of mature frog after low temperature treatment. Both regular condition (12 hours of light and average temperate of 35 degree Celsius) and treatment condition (dark-red light illumination and average temperate of 25 degree Celsius) were applied to the tadpole stage 26-27 (Gosner stage, 1690) for 16 weeks until complete metamorphosis. No difference in both growth rate and size were found in both control and treatment groups.

Keywords: Tadpole, Growth stage, Bullfrog farming, Farm level

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
สารบัญภาพ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	2
วัตถุประสงค์	2
การทบทวนวรรณกรรมและสารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	3
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	5
ผลและการอภิปรายการศึกษา	9
สรุปผลการดำเนินงาน	10
เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย	11
ประวัติคณะผู้วิจัย	12

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของลูกอ๊อด	5
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะการวางบ่อเลี้ยงในโรงเรือน (ชุดการทดลองที่ 1) ที่อุณหภูมิห้อง (32-35 องศาเซลเซียส)	6
ภาพที่ 3 แสดง ลักษณะห้อง-ถังเลี้ยงลูกกบในชุดการทดลองที่ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	7
ภาพที่ 4 แสดงกราฟเปรียบเทียบระยะการเจริญของลูกอ๊อดกบนา	9

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงค่ากลาง (median) ของระยะการเจริญของลูกอ๊อดกบนา	

รายงานฉบับสมบูรณ์

ตุลาคม 2560-กันยายน 2561

(ภาษาไทย) โครงการการชะลอการเจริญของของลูกอ๊อดกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* ในภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับฟาร์ม ปีที่ 2

(ภาษาอังกฤษ) Developmental retarding on *Hoplobatrachus rugulosus* tadpoles at low temperature condition in farming scale Year 2

คณะผู้วิจัย ผศ.ดร.วิเชฏฐ์ คนซื่อ

หน่วยงานสนับสนุน

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (.อพ.สธ)

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

กบนา *Hoplobatracus rugulosus* (Wiegmann,1835) [8] เป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่นิยมบริโภคกันมากในปัจจุบัน เนื่องจากเนื้อกบนามีโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ทุกส่วนของกบนาสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย เช่น หนังกบสามารถนำไปทำกระเป๋า รองเท้า เครื่องดนตรี และของชำร่วยต่างๆ ทำให้กบนากลายเป็นสัตว์เลี้ยงที่สำคัญในการเกษตรของเกษตรกรไทย [2]

ราคาการซื้อขายกบนามีความผันผวนเป็นอย่างมากในรอบปี [1] ขึ้นอยู่กับปริมาณของกบนาที่ออกสู่ตลาด ในฤดูฝนหรือฤดูวางไข่ตามธรรมชาติของกบ ราคาขายกบนาจะอยู่ในช่วง 40-60 บาทต่อกิโลกรัม แต่ในช่วงฤดูหนาวถึงฤดูแล้ง ราคากบนาจะสูงถึงกิโลกรัมละ 100 บาท เนื่องจากเป็นฤดูจำศีลของกบ อีกทั้งกบนาที่เพาะเลี้ยงโดยการผสมพันธุ์เทียมในช่วงฤดูหนาวมีโอกาสประสบความสำเร็จน้อยในการผสมพันธุ์อีกด้วย ส่งผลให้เกษตรกรบางรายมีรายได้ลดลงจากการขายกบนา [3]

เอกสารอ้างอิงจากบทความทางวิทยาศาสตร์หลายฉบับที่ศึกษาระหว่างการลดลงของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของลูกอ๊อดกบ [6][9] ได้ยืนยันผลการการทดลองในลักษณะเดียวกันว่า อุณหภูมิที่ลดลงนั้นมีผลต่อการชะลออัตราการเจริญของลูกอ๊อด [4][5][7] อีกทั้งการเลี้ยงกบให้มีอัตราการเจริญตามธรรมชาติ ควรเลี้ยงที่อุณหภูมิเฉลี่ยมากกว่า 25 องศาเซลเซียส สำหรับการเลี้ยงกบในประเทศไทย [2]

ดังนั้นผู้จัดทำโครงการจึงมีแนวคิดในการชะลอระยะการเจริญของกบนาให้ช้าลง เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกบของเกษตรกร อาจมีผลทำให้กบนาออกสู่ตลาดภายในประเทศหรือตลาดระหว่างประเทศได้ตลอดทั้งปี ยังผลต่อเกษตรกรผู้สนใจเลี้ยงกบมีรายได้เพิ่มมากขึ้นในฤดูกบขาดแคลน

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อสนองพระราชดำริ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.)
2. เพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญต่อของลูกอ๊อดกบนาภายหลังจากการได้รับอุณหภูมิต่ำช่วงหนึ่งของระยะลูกอ๊อดในระดับฟาร์ม
3. เพื่อศึกษาขนาดของกบนาหลังจากการเจริญเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระยะลูกอ๊อด

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information)ที่เกี่ยวข้อง

การชะลอระยะการเจริญภายใต้อุณหภูมิต่ำ

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 2 ค่า (24 องศาเซลเซียส และ 32 องศาเซลเซียส) กับระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญของลูกอ๊อดคางคกทั้ง 4 สายพันธุ์ Ivan Gomez-mestre พบว่าตัวอ่อนคางคกทั้ง 4 สายพันธุ์ใช้เวลาในการเจริญเป็นตัวสมบูรณ์ไม่เท่ากัน แต่ที่สังเกตได้คือ ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ตัวอ่อนคางคกจะใช้ระยะเวลาในการเจริญเป็นตัวสมบูรณ์สั้นกว่าที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียสทั้ง 4 สายพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ โดยผลการทดลองที่ได้คือ ลูกอ๊อดกบนาที่เลี้ยงในอุณหภูมิแวดล้อมตามธรรมชาติ เฉลี่ย 30.55 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการเจริญเป็นตัวสมบูรณ์ 37 วัน ซึ่งน้อยกว่าลูกอ๊อดกบนาที่เลี้ยงไว้ภายใต้อุณหภูมิต่ำช่วงหนึ่ง ที่ใช้ระยะเวลาในการเป็นตัวสมบูรณ์ถึง 103 วัน ในขณะที่ลูกอ๊อดกบนาที่เลี้ยงไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิต่ำชะลอระยะการเจริญไว้ที่ระยะ Gosner stage 28

ความสามารถในการเจริญต่อของลูกอ๊อดกบนา

จากการรวบรวมและทดลองหาช่วงความทนทานต่ออุณหภูมิของเอ็มบริโอ Tree frog ของ Brown ในปี 1975 พบว่าเอ็มบริโอของ Tree frog สายพันธุ์เดียวกัน คือ *Hyla regilla* ที่พบในบริเวณต่างกันมีช่วงความทนทานต่ออุณหภูมิที่ต่างกันมาก โดยสายพันธุ์ที่พบใน California มีช่วงความทนทานต่ออุณหภูมิกว้างกว่าที่พบใน Washington เขาคาดว่าที่แหล่งที่อยู่อาศัยมีส่วนเกี่ยวข้องกับช่วงความทนทานต่ออุณหภูมิ โดย California อยู่ใกล้เขตร้อนมากกว่า Washington จึงทำให้ค่าความทนทานต่ออุณหภูมิสูงสุด มีค่าที่สูงกว่าสายพันธุ์ที่พบใน Washington ซึ่งสามารถโยงถึงการทดลองในครั้งนี้ เนื่องจากกบนาเป็นกบในเขตร้อนอยู่ในบริเวณที่ใกล้เส้นศูนย์สูตรจึงมีช่วงความทนทานต่ออุณหภูมิค่อนไปทางอุณหภูมิสูงกว่ากบที่อยู่ในเขตอบอุ่น

ในปี ค.ศ.1941 Schechtman & Olson ได้ทำการทดลองโดยเลี้ยงลูกอ๊อด *H. regilla* ในน้ำที่มีอุณหภูมิประมาณ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน จากนั้นจึงย้างออกมาเลี้ยงที่อุณหภูมิแวดล้อมตามธรรมชาติประมาณ 28 องศาเซลเซียส พบว่าลูกอ๊อด *H. regilla* สามารถเจริญต่อไปเป็นตัวสมบูรณ์ได้ ซึ่งสนับสนุนการทดลองในครั้งนี้ และเขายังได้อธิบายอีกว่าการที่ *H. regilla* สามารถเจริญต่อได้เนื่องจากช่วงอุณหภูมิที่ทดลองยังอยู่ในช่วงของอุณหภูมิที่สามารถทนทานได้ ซึ่งสามารถอนุมานได้ว่าการที่ลูกอ๊อดกบนาสามารถเจริญต่อได้ แสดงว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองนั้นเป็นอุณหภูมิที่ลูกอ๊อดกบนาสามารถทนทานได้เช่นกัน

ความผิดปกติที่พบในการเจริญ

การเจริญที่ผิดปกติ เช่น ลักษณะขาหลังเจริญเพียงข้างเดียว และลักษณะของขาหลังที่คดงอผิดปกติ คาดว่าน่าจะมาจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำที่เลี้ยง โดยสามารถอธิบายได้จาก 2 แนวคิด

Somero (1969) ได้เสนอว่าการเจริญที่ผิดปกติของสิ่งมีชีวิตในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่นการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ มีผลทำให้โครงสร้างของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญ (ปัจจุบันอาจรู้จักกันในชื่อ เรกกูเลเตอร์ หรือ โปรตีน) เปลี่ยนแปลงโครงสร้างไป จึงก่อให้เกิดการเจริญที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

Dasgupta & Grewal (1968) ได้เสนอว่าการเจริญที่ผิดปกติของสิ่งมีชีวิตนั้นสามารถเกิดได้ตามธรรมชาติอยู่แล้ว โดยถ้าหากทั้งพ่อและแม่เป็น single gene dominant ลูกที่เกิดมาก็จะมีโอกาสแสดงลักษณะด้อยได้ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์

ในการทดลองนี้ ความคิดเห็นของ Somero น่าจะสามารถอธิบายความผิดปกติของการเจริญของลูกอ๊อดกบนาได้ได้ดีกว่า ซึ่งกบนาในชุดการทดลองที่เลี้ยงไว้ในอุณหภูมิแวดล้อมตามปกติไม่พบการเจริญที่ผิดปกติเลย จึงค่อนข้างที่จะขัดต่อผลการทดลองของ Dasgupta & Grewal

ขอบเขตการวิจัย

ทำการวิเคราะห์การเจริญในบ่อเลี้ยงที่เลี้ยงในสภาพฟาร์ม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของลูกอ๊อดเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิต่ำ
2. สามารถเพิ่มจำนวนกบนานอกฤดูผสมพันธุ์ได้

การนำไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงวิธีการเลี้ยงเพื่อเพิ่มรายได้และเป็นทางเลือกในการประกอบอาชีพ

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
3. โรงเรียนในพื้นที่ใกล้เคียง
4. องค์การบริหารส่วนตำบลในพื้นที่ใกล้เคียง
5. โรงเรียนและองค์การบริหารส่วนตำบลในพื้นที่อื่นๆ

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. แผนการศึกษา

1.1. ผสมพันธุ์กบและคัดเลือกเอมบริโอ

1.1.1. ทำการผสมพันธุ์กบนาในโรงเลี้ยงกบ ของสถานีวิจัยและคัดเลือกพันธุ์สัตว์ไหล่น่าน ศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หมู่ 2 ตำบลไหล่น่าน อำเภอเวียงสา จังหวัดน่าน ซึ่งมีอุณหภูมิแวดล้อมในช่วง 24-30 องศาเซลเซียส และมีแสงสว่างตามธรรมชาติเฉลี่ย 12 ชั่วโมงต่อวัน

1.1.2. คัดเลือกลูกอ๊อดกบโดยอ้างอิงระยะการเจริญตามระยะการเจริญของลูกอ๊อดกบของ Gosner,1960 โดยจะเลือกลูกอ๊อดกบในระยะ Gosner stages 16-18 จำนวน 2,000 ตัวลงในถังพลาสติก ขนาด กว้างxยาวxสูง เท่ากับ 100x160x85 เซนติเมตร จำนวน 4 ถัง

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของลูกอ๊อด

1.2. การตรวจสอบผลของการลดอุณภูมิแวดล้อมต่อการชะลอการเจริญของลูกอ๊อดกบนา

แยกการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง

- <u>ชุดการทดลองที่ 1</u> เลี้ยงกบในอุณหภูมิธรรมชาติในโรงเลี้ยง (control)

1. นำเอมบริโอกบนาที่คัดเลือกไว้แล้วใส่ลงในกล่องเลี้ยงขนาดกว้างxยาวxสูงเท่ากับ 100x160x85 เซนติเมตร จำนวน 2 ถังๆ ละ 500 ตัว นำไปเก็บไว้ในโรงเลี้ยงกบ

2. ให้อาหารสำหรับลูกอ๊อดวันละ 2 ครั้ง ให้แสงสว่างตามธรรมชาติประมาณ 12 ชั่วโมงต่อวัน และให้ออกซิเจนตลอด 24 ชั่วโมง

3. สังเกตระยะการเจริญของลูกอ๊อด, บันทึกช่วงการเจริญ, บันทึกจำนวนลูกอ๊อดจนพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (Gosner stage 46) และนับจำนวนตัวเต็มวัย

4. เก็บตัวอย่างลูกอ๊อดบ่อละ 10 ตัวทั้ง 3 บ่อ ทุกๆ 7 วันดองลงใน 70% แอลกอฮอล์

5. วัดความยาวจากปลายจมูกถึงรูทวาร (snout-vent length, SVL) และหาค่าเฉลี่ย

6. บันทึกจำนวนวันตั้งแต่เริ่มคัดเลือกเอมบริโอกบจนถึงระยะตัวสมบูรณ์

7. ระยะเวลาทดลอง วันที่ 25 กันยายน 2561- 15 กุมภาพันธ์ 2562

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะการวางบ่อเลี้ยงในโรงเรือน (ชุดการทดลองที่ 1) ที่อุณหภูมิห้อง (32-35 องศาเซลเซียส)

- <u>ชุดการทดลองที่ 2</u> เลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 25 องศาเซลเซียสและไม่มีแสง

1. นำเอมบริโอกบนาที่คัดเลือกไว้แล้วใส่ลงในกล่องเลี้ยงขนาดกว้างxยาวxสูงเท่ากับ 100x160x85 เซนติเมตร จำนวน 2 ถังๆ ละ 500 ตัว

2. ให้อาหารสำหรับลูกอ๊อดวันละ 2 ครั้ง ไม่มีแสงสว่าง (เลี้ยงในห้องมืด) และให้ออกซิเจนตลอด 24 ชั่วโมง

3. เก็บตัวอย่างลูกอ๊อดบ่อละ 10 ตัวทั้ง 3 บ่อ ทุกๆ 7 วันดองลงใน 70% แอลกอฮอล์

4. วัดความยาวจากปลายจมูกถึงรูทวาร (snout-vent length, SVL) และหาค่าเฉลี่ย

5. บันทึกจำนวนวันตั้งแต่เริ่มคัดเลือกเอมบริโอกบจนถึงระยะตัวสมบูรณ์

6. ระยะเวลาทดลอง วันที่ 25 กันยายน 2561- 15 กุมภาพันธ์ 2562

ภาพที่ 3 แสดง ลักษณะห้อง-ถังเลี้ยงลูกกบในชุดการทดลองที่ 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

1.3 สังเกตระยะการเจริญของลูกอ๊อด, บันทึกช่วงการเจริญ, บันทึกจำนวนลูกอ๊อดและนับจำนวนตัวเต็มวัย(หากลูกอ๊อดมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างสมบูรณ์ตาม Gosner stage 46)

1.4 บันทึกจำนวนวันตั้งแต่เริ่มทดลองจนถึงระยะตัวสำเร็จ

1.5 วิเคราะห์ผล

1 .เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวของกบตัวสมบูรณ์จากปลายจมูกถึงรูทวาร (snout-vent length) ในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้วิธีทางสถิติ one-way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics Version 17.0

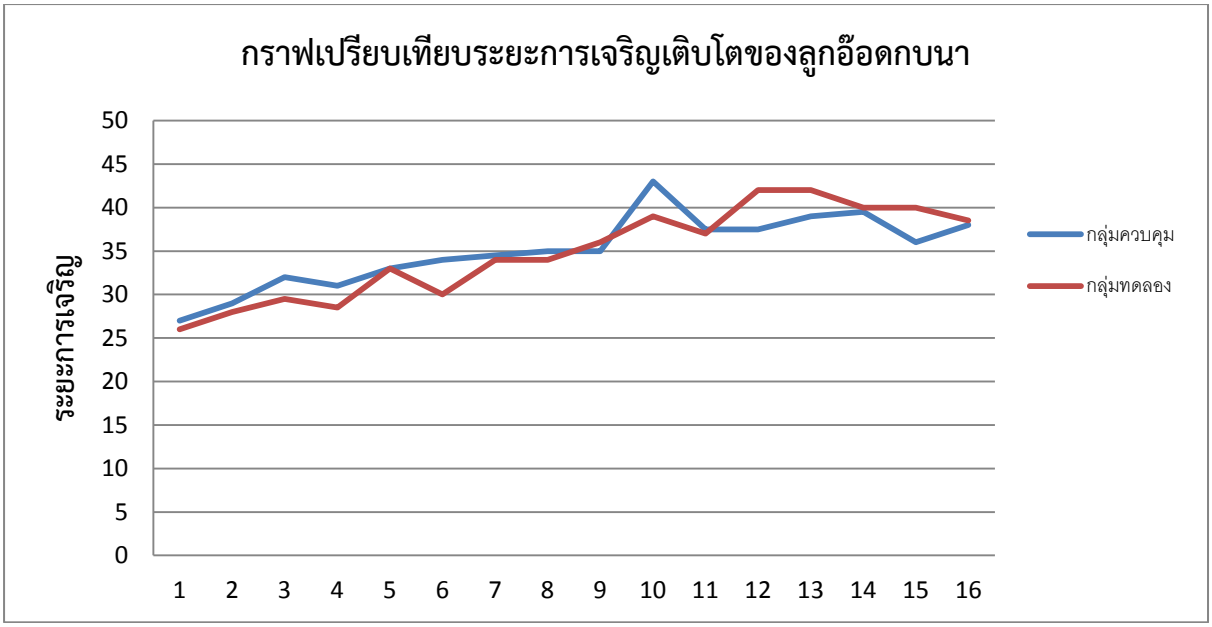
2. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนวันในการเจริญของกบนาในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2

ผลและการอภิปรายการศึกษา

ความสามารถในการเจริญต่อของลูกอ๊อดกบนาภายหลังจากการได้รับอุณหภูมิต่ำช่วงหนึ่งของระยะลูกอ๊อดในระดับฟาร์ม

ตารางที่ 1 แสดงค่ากลาง (median) ของระยะการเจริญของลูกอ๊อดกบนา

ครั้งที่	วันที่เก็บตัวอย่าง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
1	25 กันยายน 2561	27	26
2	2 ตุลาคม 2561	29	28
3	9 ตุลาคม 2561	32	29.5
4	16 ตุลาคม 2561	31	28.5
5	23 ตุลาคม 2561	33	33
6	30 ตุลาคม 2561	34	30
7	6 พฤศจิกายน 2561	34.5	34
8	13 พฤศจิกายน 2561	35	34
9	20 พฤศจิกายน 2561	35	36
10	27 พฤศจิกายน 2561	43	39
11	4 ธันวาคม 2561	37.5	37
12	11 ธันวาคม 2561	37.5	42
13	18 ธันวาคม 2561	39	42
14	25 ธันวาคม 2561	39.5	40
15	1 มกราคม 2562	36	40
16	8 มกราคม 2562	38	38.5



ภาพที่ 4 แสดงกราฟเปรียบเทียบระยะการเจริญของลูกอ๊อดกบนา

จากตารางที่ 1 และภาพที่ 4 พบว่าลูกอ๊อดทีทดลององเลี้ยงให้ห้องที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่า การพัฒนาของลูกอ๊อดจนเป็นตัวสำเร็จ (ระยะที่ 43-46) ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่เลี้ยงในภาวะอากาศปกติ

จากภาพที่ 2 เมื่อเริ่มต้นทดลองครั้งที่ 1 จนถึงครั้งที่ 6 ระยะการเจริญช่วง 26-34 แนวโน้มของกลุ่มที่เลี้ยงในภาวะปกติมีการเจริญเร็วกว่ากลุ่มทดลองเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ แต่หลังจากการทดลองครั้งที่ 7 เป็นต้นไป แนวโน้มไม่แตกต่างกันมากนักจนสิ้นสุดการทดลองในครั้งที่ 16 ซึ่งลูกอ๊อดมีอายุประมาณ 16 สัปดาห์

จากการศึกษาในครั้งนี้ผมว่ามีความแตกตต่างจากผลการศึกษาที่ผ่านมาที่เลี้ยงลูกอ๊อดในห้องปฏิบัติการในภาชนะขนาดเล็กที่พบว่า ลูกอ๊อดกบนาที่เลี้ยงในอุณหภูมิแวดล้อมตามธรรมชาติ เฉลี่ย 30.55 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการเจริญเป็นตัวสมบูรณ์ 37 วัน ซึงน้อยกว่าลูกอ๊อดกบนาที่เลี้ยงไว้ภายใต้อุณหภูมิต่ำช่วงหนึ่ง ที่ใช้ระยะเวลาในการเป็นตัวสมบูรณ์ถึง 103 วัน ในขณะที่ลูกอ๊อดกบนาที่เลี้ยงไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิต่ำชะลอระยะการเจริญไว้ที่ระยะ Gosner stage 28 สาเหตุหนึ่งที่อาจจะเป็นไปได้เนื่องจากในสภาพการี้ยงในระดับฟาร์ม จำนวนลูกอ๊อดมีจำนวนมาก อาจจะเป้นไปได้ว่า กลุ่มของลูกอ๊อดอาจจะรวมตัวและมีการแลกเปลี่ยนอุณหภูมิซึ่งกันและกัน จึงทำให้การพัฒนาเป็นไปอย่างปกติ เมื่อเทียบกับการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการที่ลูกอ๊อดมีจำนวนน้อย (30 ตัวในภาชนะขนาดเล็กกว่า)

ดังนั้นจากการทดลองในครั้งนี้สรุปได้ว่า การเลี้ยงลูกอ๊อดในภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับฟาร์มมีระยะเวลาการพัฒนาไม่แตกต่างจากลูกอ๊อดที่เลี้ยงในสภาพปกติ

เอกสารอ้างอิงโครงการวิจัย

[1] พงศ์พัฒน์ บุญชูวงศ์. 2540. การตลาดและการส่งออกของกบไทย. วารสารกรมประมง ปีที่ 21. 11: 49.

[2] พงษ์พันธ์ อินทราวัฒน์. 2539. การเลี้ยงกบ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: อักษรสยามการพิมพ์.

[3] ภานุวัฒน์ นาคสิงห์. 2546. คู่มือเพาะเลี้ยงกบเชิงพาณิชย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: เพชรกะรัตสติวดิโอ.

[4] Fellers, G.M. *et al*. 2001. Overwintering tadpoles in the California red-legged frog (*Rana aurora draytonii*). Herpetological review. 32(3): 156-157

[5] Gomez-Mestre, I. and Daniel, R.B. 2006. Developmental plasticity mirrors differences among taxa in spadefoot toads linking plasticity and diversity. Proceedings of the National Academy of Sciences ofthe United States of America. 103: 19021-19026.

[6] Hutchison, V.H. and Hill, L.G.1977. Thermal selection of Bullfrog tadpoles, *Rana catesbeiana* at different stages of development and acclimation temperatures. *J. Therm. Biol.* 3: 57-60.

[7] Lai, S.J. Kam, Y.C. Hsu, F.H. and Lin, Y.S. 2002. Elevational effects on the growth and development of

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ไทย) ดร.วิเชฏฐ์ คนซื่อ

(อังกฤษ) Wichase Khonsue, Ph.D.

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3 2602 00113 502

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

เงินเดือน 54,260 บาท

เวลาที่ใช้ในการทำวิจัย (ชั่วโมง:สัปดาห์) 7

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ที่สังกัด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ติดต่อ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท ปทุมวัน กทม 10330

โทรศัพท์ 02-218-5258

โทรศัพท์มือถือ 081-456-4113

โทรสาร 02-218-5256

E-mail: Wichase.k@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

2533-2536 วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2536-2539 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2541-2544 Human and Environmental Studies Kyoto University, Kyoto, Japan

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

สาขานิเวศวิทยาและอนุกรมวิธานสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

2551-2553 ความหลากหลายของชนิดและการใช้พื้นที่ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบริเวณเทือกเขาหินปูน จังหวัดสระบุรีและลพบุรี เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย

2553-2554 โครงการวิจัยข้อมูลเบื้องต้นของสัตว์มีกระดูกสันหลัง บริเวณพื้นที่เกาะทะลุ เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย

2553-2554 โครงการวิจัยการสำรวจเบื้องต้น microhabitat ของค้างคาวคุณกิตติ

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว = ชื่อผลงานวิจัย ปีที่ตีพิมพ์ การเผยแพร่และแหล่งทุน

1. Othman, M. S., **W. Khonsue**, J. Kitana, K. Thirakhupt, M.G. Robson and N.Kitana. 2016.

Morphometric and gravimetric indices of two populations of two populations of rice frog (*Fejervarya limnocharis*) naturally exposed to different environmental cadmium levels. Journal Sains Kesihatan Malaysia. 14(2): 57-64.

2. Kitana, Jirarach, Orasa Achayapunwanich, Panupong Thammachoti, Mohd Sham Othman, **Wichase Khonsue**, Noppadon Kitana. 2015. Cadmiumcontamination and health assessment in frog *Microhyla fissipes* living downstream of Zinc mining area in Thailand. EnvironmentAsia. 8(1): 16-23.
3. Masafumi Matsui, **Wichase Khonsue**, Somsak Panha and Koshiro Eto. 2015. A New Tree Frog of the Genus *Gracixalus* from Thailand (Amphibia: Rhacophoridae). Zoological Science, 32(2):204-210.
4. Khattapan Jantawongsri, Panupong Thammachoti, Jirarach Kitana, **Wichase Khonsue**, Pakorn Varanusupakul and Noppadon Kitana. 2015. Altered Immune Response of the Rice Frog *Fejervarya limnocharis* Living in Agricultural Area with Intensive Herbicide Utilization at Nan Province, Thailand. EnvironmentAsia: 8(1): 68-74.
5. Kanto Nishikawa, **Wichase Khonsue**, Porrawee Pomchote, Masafumi Matsui. 2013. Two new species of Tylototriton (Amphibia: Urodela: Salamandridae) from Thailand. Zootaxa. 3737 (3): 261–279.
6. Othman, MS, **Khonsue, W**, Kitana, J, Thirakhupt, K, Robson, MG, Borjan, M and Kitana, N. 2012. Hepatic metallothionein and glutathione-s-transferase responses in two populations of rice frogs, Fejervarya limnocharis, naturally exposed to different environmental cadmium levels. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology doi: 10.1007/s00128-012-0708-6
7. Phochayavanich, R, **Khonsue, W** and Kitana, N. 2012. Check dams in an ephemeral stream in a tropical deciduous forest extend water period with minimal effect on reptile assemblage. Journal of Water Resource and Protection 4(6): 363-369.
8. Anusorn Pansook, **Wichase Khonsue**, Sanit Piyapattanakorn and Putsatee Pariyanonth. 2012. Phylogenetic Relationships among *Hoplobatrachus rugulosus* in Thailand as Inferred from Mitochondrial DNA Sequences of the Cytochrome- b Gene (Amphibia, Anura, Dicroglossidae). Zoological Science, 29(1):54-59.
9. Othman, MS, **Khonsue, W**, Kitana, J, Thirakhupt, K, Robson, MG and Kitana, N. 2011. Reproductive mode of *Fejervarya limnocharis* (Anura: Ranidae) caught from Mae Sot, Thailand based on its gonadosomatic indices. Asian Herpetological Research 2(1): 41-45.

10. Danaisawat, P. A. Pradatsundarasan, and **W. Khonsue**. 2010. Morphological character of some tadpole from Khao Sip Ha Chan Proposed National Park, Chantaburi Province. Journal of Wildlife in Thailand. 17: 64-103. in Thai
11. **Khonsue, W.**, T. Chaiananporn, and P. Pomchot. 2010. Skeletochronological assessment of age in the Himalayan Crocodile newt, *Tylototriton verrucosus* (Anderson, 1871) from Thailand. Tropical Natural History 10 (2): 181-188.
12. Matsui, M., S. Panha, **W. Khonsue** and N. Kuraishi.2010. Two new species of the "*kuhlii*" complex of the genus Limnonectes from Thailand (Anura: Dicroglossidae) Zootaxa 2615: 1–22.
13. Phochayavanich, R., Voris, H.K**., Khonsue, W.**, Thunhikorn, S. and Thirakhupt, K. 2010. Comparison of stream frog assemblages at three elevations in an evergreen forest, North-Central Thailand. Zoological Studies 49(5): 632-639.
14. Matsui M, Hamidy A, Murphy RW, **Khonsue W**, Yambun P, Shimada T, Ahmad N, Belabut DM, Jiang JP. 2010. Phylogenetic relationships of megophryid frogs of the genus Leptobrachium (Amphibia, Anura) as revealed by mtDNA gene sequences. Mol Phylogenet Evol. 56(1):259-72.
15. Masafumi Matsui, Atsushi Tominaga, Wanzhao Liu, **Wichase Khonsue**, Lee Grismer, Arvin Diesmos, Indraneil Das, Ahmad Sudin, Paul Yambun, Hoisen Yong, Jeet Sukumaran, and Rafe Brown. 2010. Phylogenetic relationships of Ansonia from Southeast Asia inferred from mitochondrial DNA sequences: Systematic and biogeographic implications (Anura: Bufonidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 54 (2): 561-570.
16. Othman, MS, **Khonsue, W**, Kitana, J, Thirakhupt, K, Robson, MG and Kitana, N. 2009. Cadmium accumulation in two populations of rice frogs (*Fejervarya limnocharis*) naturally exposed to different environmental cadmium levels. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 83(5):703-7.
17. McLeod, D., J. A. Sheridan, W. Jiraungkoorskul, and **W. Khonsue**. 2008. A survey for Chytrid in Thai Amphibians. **The Raffles Bulletin of Zoology**. 56(1): 199-204. IF 0.648
18. Porrawee , P., P. Pariyanonth and **W. Khonsue**. 2008. Two Distinctive color patterns of the Himalayan newt *Tylototriton verrucosus* (Urodella: Salamandridae) found in Thailand and its implication on geographic segregation. **The Natural History Journal of Chulalongkorn University**. 8(1): 35-43.

19. Kotaki M, Kurabayashi A, Matsui M, **Khonsue W**, Djong TH, Tandon M, Sumida M. 2008. Genetic Divergences and Phylogenetic Relationships Among the *Fejervarya limnocharis* Complex in Thailand and Neighboring Countries Revealed by Mitochondrial and Nuclear Genes. **Zoological Science**. 25 (4): 381-390.
20. Sumida, M., Kotaki, M., Islam, M.M., Djong, T.H., Igawa, T., Kondo, Y., Matsui, M., Anslem, D.S., **Khonsue, W.**, Nishioka, M. 2007. Evolutionary relationships and reproductive isolating mechanisms in the rice frog (*Fejervarya limnocharis*) species complex from Sri Lanka, Thailand, Taiwan and Japan, inferred from mtDNA gene sequences, allozymes, and crossing experiments. **Zoological Science** 24 (6): 547-562. IF 0.179.
21. Djong, T.H., Islam, M.M., Nishioka, M., Matsui, M., Ota, H., Kuramoto, M., Khan, Md.M.R., Alam, M.S., Anslem, D.S., **Khonsue, W**., Sumida, M. 2007. Genetic relationships and reproductive-isolation mechanisms among the *Fejervarya limnocharis* complex from Indonesia (Java) and other Asian countries. **Zoological Science** 24 (4): 360-375. IF 0.179.
22. Kitana, N., **W. Khonsue**, S. J. Won, V. A. Lance and I. P. Callard. 2006. Gonadotropin and estrogen responses in freshwater turtle (*Chrysemys picta*) from Cape Cod, Massachusetts. **General and Comparative Endocrinology**. 149: 49-57. IF 2.29
23. Matsui M, T. Shimada, WZ Liu, M. Maryati, **W. Khonsue** and N. Orlov. 2006. Phylogenetic relationships of Oriental torrent frogs in the genus *Amolops* and its allies (Amphibia, Anura, Ranidae). **Molecular Phylogenetic Evolution** 38(3): 659-666. IF 4.213.
24. Matsui, M., Ito, H., Shimada, T., Ota, H., Saidapur, S.K., **Khonsue, W.**, Tanaka-Ueno, T., Wu, G.-F.2005. Erratum: Taxonomic relationships within the pan-oriental narrow-mouth toad Microhyla ornata as revealed by mtDNA analysis (Amphibia, Anura, Microhylidae) (Zoological Science (2005) 22:4 (489-495)). **Zoological Science** 22(6): 711. IF 0.179.
25. Matsui, M., **W. Khonsue**, and J. Nabhitabhata. 2005. A new Ansonia from the Isthmus of Kra, Thailand (Amphibia, Anura, Bufonidae). **Zoological Science** 22(7): 809-814. IF 1.043. IF 0.179
26. Matsui, M., H. Ito, T. Shimada, H. Ota, S. K. Saidapur, **W. Khonsue**, T. Tanaka-Ueno and G. Wu. 2005. Taxonomic relationships within the Pan-Oriental narrow-mouth toad, *Microhyla ornata* as revealed by mtDNA Analysis (Amphibia, Anura, Microhylidae). **Zoological Science** 22: 489-495. IF 1.043

27. **Khonsue, W.** 2004. A review of amphibian study in Thailand Part 1 before Taylor period (1859-1956). **Journal of Scientific Research Chulalongkorn University (Section T)** 3(1): 61-67. **(in Thai)**

28. **Khonsue, W.**, M. Matsui, and Y. Misawa. 2002. Age determination of Daruma pond frog, *Rana porosa brevipoda* from Japan towards its conservation (Amphibia: Anura). **Amphibia-Reptilia** 23 (3): 259-268.

29. Matsui, M., K. Nishikawa, **W. Khonsue,** S. Panha and J. Nabhitabhata. 2001. Allozymatic variation in *Rana nigrovittata* (Amphibia: Anura) within Thailand with special reference to the taxonomic status of *R. mortenseni*. **The Natural History Journal of Chulalongkorn University** 1(1): 15-22.

30. **Khonsue, W.** and K. Thirakhupt. 2001. A checklist of the amphibians in Thailand. **The Natural History Journal of Chulalongkorn University** 1 (1): 69-82.

31. **Khonsue, W**. and M. Matsui. 2001. Absence of lines of arrested growth in overwintered tadpoles of the American Bullfrog, *Rana catesbeiana* (Amphibia, Anura). **Current Herpetology** 20(1): 33-37.

32. **Khonsue, W.**, M. Matsui, T. Hirai, and Y. Misawa. 2001. A comparison of age structure in two populations of a pond frog, *Rana nigromaculata* (Amphibia: Anura). **Zoological Science** 18: 597-603.

33. **Khonsue, W.**, M. Matsui, T. Hirai, and Y. Misawa. 2001. Age determination of wrinkled frog, *Rana rugosa* with special reference to high variation in postmetamorphic body size (Amphibia: Ranidae). **Zoological Science** 18: 605-612.

34. **Khonsue, W.**, M. Matsui, and Y. Misawa. 2000. Age determination by skeletochronology of *Rana nigrovittata*, a frog from tropical forest of Thailand. **Zoological Science** 17: 253-257.

โครงการวิจัย **โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

แหล่งทุน **ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ ประเภทเงินอุดหนุนการวิจัยจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2561**

หัวหน้าโครงการ **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงชัย หาญยุทธนากร**

ส่วนงาน **ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์**

.....

แบบสรุปผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

โครงการการชะลอการเจริญของของลูกอ๊อดกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* ในภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับฟาร์ม ปีที่ 2

รายงานช่วงระยะตั้งแต่ วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2560 ถึงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2561

1. หลักการ ความสำคัญ ความเป็นมา :

2. วัตถุประสงค์โครงการ

2.1 เพื่อสนองพระราชดำริ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ (อพ.สธ.)

2.2 เพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญต่อของลูกอ๊อดกบนาภายหลังจากการได้รับอุณหภูมิต่ำช่วงหนึ่งของระยะลูกอ๊อดในระดับฟาร์ม

2.3 เพื่อศึกษาขนาดของกบนาหลังจากการเจริญเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระยะลูกอ๊อด

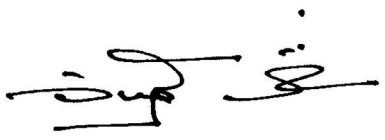
2. ผลการดำเนินงาน : [ ] ได้ดำเนินงานตามแผนงานที่ได้วางไว้ทุกประการ

[✓] ได้เปลี่ยนแปลงแผนงานที่ได้วางไว้ดังนี้

3. สรุปผลการดำเนินงาน

เป็นการสรุปผลการศึกษาโดยภาพรวมและคาดว่าผลผลิตที่ได้เป็นไปตามแผนที่กำหนด

ที่	กิจกรรม	ผลผลิต	ตัวชี้วัด/จำนวน
1.	จัดเตรียมตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์กบนา	พ่อแม่พันธุ์กบนา	เลี้ยงกบนาพ่อ-แม่พันธุ์จำนวน 10 คู่เพื่อใช้ผลิตลูกอ๊อดเพื่อนำมาทดลอง
2.	การจัดเตรียมสถานที่ทดลองโดยทำการทดลองที่สถานีวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีไหล่น่าน ศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จ.น่าน	ถังเลี้ยงในระดับฟาร์มในโรงเรียนขนาด 6x6 เมตร	ถังเลี้ยงจำนวน 4 ใบ จำนวนลูดอ๊อด 2,000 ตัว
3.	ทดลองเลี้ยงลูกอ๊อดในภาวะอุณหภูมิต่ำ	ข้อมูล-ผลการทดลอง	ระยะการเจริญที่สัมพันธ์กับจำนวนวันในการเลี้ยง
4.	เก็บตัวอย่างระยะการเจริญ-จำนวนวัน	วิเคราะห์เปรียบเทียบ	รายงานการวิเคราะห์
5.	วิเคราะห์ผล และเขียนรายงานฉบับสมบูรณ์	จัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์	รายงานฉบับสมบูรณ์/ 1 ฉบับ



ผศ. ดร.วิเชฏฐ์ คนซื่อ

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

.....19.../...พฤษภาคม..../....2562.....

ภาคผนวก

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาการชะลอการเจริญของของลูกอ๊อดกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* ในภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับฟาร์มการเลี้ยงลูกอ๊อดในภาวะอุณหภูมิต่ำในระดับฟาร์มเพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญต่อของลูกอ๊อดกบนาภายหลังจากการได้รับอุณหภูมิต่ำช่วงหนึ่งของระยะลูกอ๊อดในระดับฟาร์มและศึกษาขนาดของกบนาหลังจากการเจริญเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระยะลูกอ๊อด ด้วยการเลี้ยงลูกอ๊อดในสภาพปกติ (แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิเฉลี่ย35 องศาเซลเซียส) และในสภาพอุณหภูมิต่ำ (ห้องมืด-แสงสีแดงและอุณหภูมิเฉลี่ย 25 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ จากระยะการเจริญ (Gosner stage, 1690) ระยะที่ 26-27 จนเป็นตัวสำเร็จ (complete metamorphosis) พบว่าลูกอ๊อดที่เลี้ยงในสภาพอุณหภูมิต่ำมีระยะเวลาการพัฒนาและขนาดไม่แตกต่างจากลูกอ๊อดที่เลี้ยงในสภาพปกติ