รายงานวิจัย
การพัฒนาการทำฟาร์มเลี้ยงกบ
และการใช้เทคโนโลยีในการเลี้ยงโดยวิธีผสมผสาน
2532

---

1. การใช้ออร์โมนรักษาให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์
2. การเจริญระยะ Metamorphosis ของลูกอ๊อดกบนา (Rana tigerina)
3. พฤติกรรมการสืบพันธุ์และอัตราการอยู่รอดของกบบูเยา (Rana blythii Boulenger) ในบ่อเลี้ยง
4. การวิเคราะห์โครโมโซมกบบูเยา (Rana blythii Boulenger)

639.3789
ก493

รายงานวิจัย
การพัฒนาการทำฟาร์มเลี้ยงกบ
และการใช้เทคโนโลยีในการเลี้ยงโดยวิธีผสมผสาน
2532

---

1. การใช้ฮอร์โมนชักนำให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์
2. การเจริญระยะ Metamorphosis ของลูกอ๊อดกบนา (Rana tigerina)
3. พฤติกรรมการสืบพันธุ์และอัตราการอยู่รอดของกบภูเขา (Rana blythii Boulenger) ในบ่อเลี้ยง
4. การวิเคราะห์โครโมโซมกบภูเขา (Rana blythii Boulenger)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 21258870 23 ส.ค. 2547

ฝ่ายวิจัย จุฬาฯ
มอบให้หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6 / มี.ค. / 34

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัย
การพัฒนาการทำฟาร์มเลี้ยงกบ
และการใช้เทคโนโลยีในการเลี้ยงโดยวิธีผสมผสาน
2532

ผุสตี ปริยานนท์

สุดสนอง ผาตินาวิน

กัมพล อิศรางกูร ณ อยุธยา

นงเยาว์ จันทร์ผ่อง

ธีรวรรณ นุตประพันธ์

วิโรจน์ ดาวฤกษ์

พนวลันต์ เอี่ยมจันทน์

สิงหาคม 2533

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

058200

รายงานวิจัย
การพัฒนาการทำฟาร์มเลี้ยงกบ
และการใช้เทคโนโลยีในการเลี้ยงโดยวิธีผสมผสาน
2532

สารบัญ หน้า

กิตติกรรมประกาศ ____ ก

สรุป (บทคัดย่อ) ____ 1

บทนำ ____ 3

บทที่ 1 การใช้ฮอร์โมนชักนำให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์ ____ 6

บทที่ 2 การเจริญระยะ Metamorphosis ของลูกอ๊อดกบนา (Rana tigerina) ____ 16

บทที่ 3 พฤติกรรมการสืบพันธุ์และอัตราการอยู่รอดของกบภูเขา (Rana blythii Boulenger) ในบ่อเลี้ยง ____ 26

บทที่ 4 การวิเคราะห์โครโมโซมกบภูเขา (Rana blythii Boulenger) ____ 41

ภาคผนวก ภาพประกอบ ____ 48

- งานวิจัยการขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงกบฯ
- สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี เสด็จทอดพระเนตรโครงการฯ เมื่อ 17 มิ.ย. 33
- พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และสมเด็จพระนางเจ้าพระบรมราชินีนาถ เสด็จทอดพระเนตรโครงการฯ เมื่อ 26 มิ.ย. 33

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้การสนับสนุนการวิจัยโดยเงินทุนงบประมาณแผ่นดิน

ขอขอบคุณ คณะกรรมการประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (กปร.) และคณะกรรมการบริหาร ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยทรายอันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ. ชะอำ จ. เพชรบุรี ที่ได้ให้การสนับสนุนในการจัดตั้งสถานีวิจัย "การขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงกบฯ" พร้อมทั้งงบประมาณในการดำเนินการ

ขอขอบคุณ ผู้อำนวยการมูลนิธิแพทย์อาสาสมเด็จพระศรีนครินทร์ (พ.อ.ส.ว.) ที่ได้ให้การสนับสนุนในเรื่องการเก็บรวบรวมพันธุ์กบภูเขา

นอกจากนี้ ขอขอบคุณ คณบดี รองคณบดีฝ่ายวิจัย รองคณบดีฝ่ายบริหาร รองคณบดีหัวหน้าภาควิชาชีววิทยา หัวหน้าภาควิชาธรณี หัวหน้าภาควิชาเคมี ตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ได้ให้ความร่วมมือ และสนับสนุนให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปบทคัดย่อ

การใช้ฮอร์โมน HCG, PMSG ร่วมกับ HCG และการใช้ GnRH analogs ชักนำให้เกิดการตกไข่และผสมพันธุ์ในกบนา พบว่าเมื่อใช้ฮอร์โมน HCG 100 IU และ 200 IU ยังไม่สามารถชักนำให้ตัวเมียตกไข่ได้ ส่วนการใช้ฮอร์โมน PMSG 50 IU และ 200 IU ร่วมกับ HCG 100 IU และ 200 IU สามารถชักนำให้ตัวเมียตกไข่และมีการปฏิสนธิเกิดขึ้น 30 เปอร์เซนต์ และการฉีด GnRH analogs 2 μg และ 10 μg ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถชักนำให้ตัวเมียตกไข่ได้ 100 เปอร์เซนต์ และมีการปฏิสนธิได้ 50 เปอร์เซนต์

การศึกษาการเจริญของลูกอ๊อดกบนาจนถึงขั้นเปลี่ยนแปลง (metamorphosis) เป็นลูกกบเล็กโดยแบ่งออกเป็น 4 ขั้น คือ ระยะลูกอ๊อด ระยะงอกขาหลัง ระยะงอกขาหน้า และระยะลูกกบเล็ก เมื่ออายุ 7, 14, 28 และ 42 วันตามลำดับ พบว่า เมื่ออายุ 7 วัน ลูกอ๊อดทั้งหมดยังไม่งอกขา และมีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 10.05 ± 0.70 มิลลิเมตร เมื่ออายุได้ 14 วัน มีการเจริญในระยะที่ไม่งอกขาและงอกขาหลังในอัตรา 62 % และ 38 % มีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 22.00 ± 0.12 มิลลิเมตร และ 28.21 ± 0.98 มิลลิเมตร เมื่ออายุได้ 28 วัน พบการเจริญ 4 ขั้น คือ ระยะลูกอ๊อด ระยะที่งอกขาหลัง ระยะที่งอกขาหน้า และระยะลูกกบเล็ก ในอัตรา 3.2 %, 27.8 %, 49.8 % และ 19.2 % มีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 16.25 ± 2.06 มิลลิเมตร, 43.80 ± 12.90 มิลลิเมตร, 45.80 ± 4.93 มิลลิเมตร และ 21.39 ± 0.73 มิลลิเมตร และเมื่ออายุได้ 42 วัน พบการเจริญเพียง 3 ขั้น คือ ระยะงอกขาหลัง ระยะงอกขาหน้า และระยะลูกกบ ในอัตรา 10.25 %, 14.56 % และ 75.24 % มีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 51.46 ± 4.30 มิลลิเมตร, 40.30 ± 12.9 มิลลิเมตร และ 20.53 ± 3.18 มิลลิเมตร ตามลำดับ

การเลี้ยงกบภูเขาในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพคล้ายคลึงธรรมชาติ พบว่ากบสามารถอาศัยอยู่ได้ดี มีการสืบพันธุ์ตลอดฤดูกาล (พฤศจิกายน-พฤษภาคม) แต่ยังคงกินอาหารที่เคลื่อนไหว มีการเจริญของเอมบริโอจากไข่กลายเป็นลูกอ๊อดใช้เวลาประมาณ 3 วัน ที่อุณหภูมิน้ำ 30 °C และลูกอ๊อดเจริญเป็นลูกกบเล็กในเวลาประมาณ 45 วัน

การศึกษาโครโมโซมของการแบ่งเซลล์ของกบภูเขา ทั้งแบบไมโตซีสและไมโอซีสด้วยการย้อมสีแสดง band ต่าง ๆ พบว่า กบภูเขามีโครโมโซมจำนวน 24 แท่ง จัดได้ 12 คู่ คู่ที่ 1, 5, 9 และ 11 เป็นแบบ Metacentric คู่ที่ 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10 และ 12 เป็นแบบ Submetacentric มี secondary constriction อยู่ที่โครโมโซมคู่ที่ 9 Constitutive heterochromatin คือบริเวณที่ติดสีเข้ม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
สถาบันวิทยบริการ

บทนำ

กบเป็นสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำและเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดแรกที่มีวิวัฒนาการขึ้นอยู่บนบกนานกว่า 400 ล้านปีมาแล้ว มีผิวหนังที่มีความสามารถดูดซึมน้ำและความชื้นได้มาก ดังนั้นผิวหนังกบจึงสามารถดูดซึมสารพิษและโลหะหนักที่ปนอยู่กับน้ำและอากาศเข้าไปได้ ทำให้เป็นอันตราย มีผลต่อการดำรงชีวิตและความสามารถในการอยู่รอดของกบในธรรมชาติในหลาย ๆ ชนิด ซึ่งบางชนิดที่อยู่ในธรรมชาติเมื่อไม่สามารถปรับตัวได้ก็อาจสูญพันธุ์ไป หรือบางชนิดที่เคยอาศัยอยู่ในบางแหล่งก็อาจจะมีจำนวนลดน้อยลงและไม่สามารถพบเห็นต่อไปได้อีก

เนื่องจากกบเป็นสัตว์ที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ดังนั้นนักชีววิทยาบางท่านจึงจัดกบไว้เป็น "Bio-indicators" ชนิดหนึ่ง ที่สามารถเตือนภัยให้กับมนุษย์ได้ เมื่อสภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงและอาจมีผลกระทบเป็นอันตรายโดยตรงต่อมนุษย์หรือโดยทางอ้อม นอกจากกบจะถูกจัดเป็น "Bio-indicators" แล้ว กบยังถูกจัดเป็นส่วนหนึ่งที่สร้างสมดุลย์ให้กับธรรมชาติ ("Nature's ecological balance") และเป็นแหล่งที่ให้อาหารประเภทโปรตีนแก่มนุษย์ทั่วไปที่อาศัยอยู่ในบางแหล่งของโลกอีกด้วย ดังนั้นจึงทำให้มีผู้ที่สนใจที่จะพยายามทำฟาร์มเลี้ยงกบเพื่อเป็นอาหารขึ้นในบางแหล่งของโลก ได้มีการทำฟาร์มเลี้ยงกบเป็นอุตสาหกรรมเกษตร เช่น บราซิล และไต้หวัน

การทำฟาร์มเลี้ยงกบเป็นอาชีพในประเทศไทยในปัจจุบัน กำลังเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายในเกษตรกรทุกระดับ เพราะความต้องการผลผลิตจากเนื้อกบมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกวัน ทั้งตลาดในประเทศและตลาดต่างประเทศที่ก้าวไกลไปถึงยุโรปและอเมริกา จากการศึกษาความต้องการของตลาดในแถบยุโรปและอเมริกาพบว่ามีความต้องการผลผลิตจากเนื้อกบสูงมาก ทั้งนี้เนื่องจากผู้ผลิตแหล่งใหญ่ที่เคยส่งผลผลิตไม่สามารถส่งต่อไปได้อีกซึ่งได้แก่ บังคลาเทศและอินเดีย ผลผลิตที่ส่งออกจากประเทศเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นกบที่จับจากธรรมชาติ ซึ่งมีการจับกบเพื่อส่งออกสูงมากขึ้นทุกปี อีกทั้งปัจจุบันสภาพแวดล้อมของโลกเปลี่ยนแปลงไปและมีผลกระทบเนื่องมาจาก green house effect ทำให้มีผลเสียต่อสมดุลย์ของสภาพแวดล้อม จึงทำให้กบในธรรมชาติลดน้อยไป

สำหรับอาชีพการทำฟาร์มเลี้ยงกบในประเทศไทยตามความเป็นจริงแล้ว ได้เริ่มทำกันมานานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2496 ได้มีการทำฟาร์มเลี้ยงกบนาขึ้นในหลายท้องถิ่น ในภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย นอกจากการทำฟาร์มเลี้ยงกบนาแล้ว ยังมีผู้ที่ทำการศึกษาและทดลองเลี้ยงกบบูลฟร็อกเป็นอุตสาหกรรมด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาวิจัยที่แล้ว ๆ มา และที่กำลังดำเนินการอยู่ในปัจจุบันพบว่า การทำฟาร์มเลี้ยงกบเป็นอาชีพในประเทศไทยยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร และไม่สามารถขยายวงกว้างออกไปได้เช่นเดียวกันกับประเทศอื่น ๆ ได้แก่ บราซิล และ ไต้หวัน ซึ่งปัญหาที่ทำให้ธุรกิจในการทำฟาร์มเลี้ยงกบไม่สามารถขยายออกไปได้ทั้งนี้เนื่องจากเกษตรกรที่ทำฟาร์มเลี้ยงกบยังขาดความรู้ทางวิชาการ และความเข้าใจในการที่จะพัฒนาวิธีการทำฟาร์มเลี้ยงกบให้ดีขึ้น จึงทำให้ประสบปัญหาต่าง ๆ ได้ผลผลิตต่ำและไม่ต่อเนื่องตลอดปี ปัญหาหลักเหล่านี้เป็นปัญหาที่มีผลต่อเนื่องไปถึงวงจรการทำธุรกิจและการส่งออกด้วย ปัญหาต่าง ๆ ได้แก่

1. วิธีการขยายพันธุ์และการจัดหาพันธุ์กบเพื่อนำมาใช้เลี้ยงในฟาร์มได้ตลอดปี
2. วิธีการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกบในระยะต่าง ๆ ได้แก่ ลูกอ๊อด กบเนื้อ และกบพันธุ์
3. การคัดเลือกพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ที่ดี เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์
4. การผลิตอาหารสังเคราะห์ เพื่อใช้เลี้ยงกบในฟาร์มขนาดใหญ่
5. ขาดความรู้ทางด้านชีววิทยาของกบ ในการที่จะนำไปแก้ไขควบคุมพฤติกรรมบางอย่างให้ดีขึ้น เช่น พฤติกรรมการจำศีล การกินกันเอง และ ฯลฯ
6. ปัญหาเรื่องโรค และศัตรู

ปัญหาเบื้องต้นดังกล่าวนี้ นับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่ง ที่ทำให้การทำฟาร์มเลี้ยงกบเป็นอาชีพในประเทศไทยไม่สามารถขยายวงกว้างออกไปได้ไกล ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัย เพื่อหาวิธีการปรับปรุงแก้ไขและพัฒนาการทำฟาร์มให้ดีขึ้น ด้วยการนำเอาความรู้ทางวิทยาศาสตร์ด้านเทคโนโลยีชีวภาพและวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีในสาขาอื่น ๆ เข้ามาช่วย จึงจะทำให้การทำฟาร์มเลี้ยงกบได้ผลผลิตดีและมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำรายได้สูงให้กับเกษตรกร ทำให้เกษตรกรมีความอยู่ดีกินดี เป็นการพัฒนาคุณภาพชีวิต

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยปี 2532 ประกอบด้วย

1. การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์กบนาในฟาร์มเลี้ยงให้มีประสิทธิภาพ ด้วย "วิธีการใช้ฮอร์โมนชักนำให้กบนาผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง"
2. "ศึกษาอัตราการเจริญของลูกอ๊อดในระยะต่าง ๆ และอัตราการอยู่รอด" เนื่องจากระยะการเจริญของลูกอ๊อดหรือระยะการอนุบาล เป็นระยะที่มีความสำคัญต่อความอยู่รอดของกบในระยะอื่นเป็นอย่างมาก ดังนั้นถ้าระยะนี้มีอัตราการสูญเสียสูงจะทำให้ผลผลิตที่ได้ในฟาร์มต่ำลง
3. "ศึกษาอัตราการอยู่รอดและการสืบพันธุ์ของกบภูเขาในบ่อเลี้ยง" ทั้งนี้เนื่องจากกบภูเขามีปริมาณลดน้อยลงทุกที เนื่องมาจากผลกระทบของสภาพแวดล้อมจนเกรงว่าจะสูญพันธุ์ไป ดังนั้นการศึกษานี้จึงทำขึ้นเพื่อหาแนวทางในการอนุรักษ์พันธุ์ รวมทั้งหาแนวทางและความเป็นไปได้ในการที่จะแก้ไขและพัฒนาให้กบชนิดนี้อาจจะกลายเป็นสัตว์เศรษฐกิจได้อีกชนิดหนึ่ง
4. ศึกษาลักษณะพันธุกรรมของกบภูเขา "การวิเคราะห์จำนวนโครโมโซม" เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานจะนำไปใช้ในโครงการอนุรักษ์พันธุ์กบภูเขาในการหาแนวทางที่จะพัฒนาพันธุ์ และศึกษาโอกาสของความเป็นไปได้ในการผสมข้ามพันธุ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

การใช้ฮอร์โมนชักนำให้กบนา (Rana tigerina) ผสมพันธุ์

The Hormones induced Breeding in Tiger-Frogs (Rana tigerina)

บทคัดย่อ

การใช้ฮอร์โมน HCG, PMSG ร่วมกับ HCG และการใช้ GnRH analogs ชักนำให้เกิดการตกไข่และผสมพันธุ์ในกบนา พบว่าเมื่อใช้ฮอร์โมน HCG 100 IU และ 200 IU ยังไม่สามารถชักนำให้ตัวเมียตกไข่ได้ ส่วนการใช้ฮอร์โมน PMSG 50 IU และ 200 IU ร่วมกับ HCG 100 IU และ 200 IU สามารถชักนำให้ตัวเมียตกไข่และมีการปฏิสนธิเกิดขึ้น 30 เปอร์เซนต์ และการฉีด GnRH analogs 2 ug และ 10 ug ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สามารถชักนำให้ตัวเมียตกไข่ได้ 100 เปอร์เซนต์ และมีการปฏิสนธิได้ 50 เปอร์เซนต์

Abstract

HCG, PMSG in combination with HCG and GnRH analogs have been used to induced ovulation and spawning in o, o tiger frog (Rana tigerina). Use 2 doses of HCG (100 IU and 200 IU) could not induce female frogs to spawning while 1PMSG (50 IU and 100 IU) in combination with HCG (100 IU and 200 IU) were demonstrated for 30 % induction of ovulation and fertilization. GnRH analogs found to induce 100 % ovulation and 50 % fertilization.

คำนำ

ได้มีผู้ทำการศึกษาการใช้ฮอร์โมนชักนำให้เกิดการตกไข่ และการหลั่งอสุจิ ในกบ ด้วยการฉีดต่อมใต้สมองและฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเข้าไปในกบตัวเมียชนิด Rana pipiens สามารถ ทำให้กบตัวเมียมีการตกไข่ได้ (1) ในทำนองเดียวกัน ถ้าฉีด Human chorionic gonadotropin (HCG) เข้าไปในกบตัวผู้ชนิดเดียวกัน สามารถกระตุ้นให้กบตัวผู้หลั่งอสุจิได้เช่นกัน (2) นอกจากนี้ Pramoda และ Saidapur (3) ได้ทำการทดลองใช้ต่อมใต้สมอง จากกบชนิด Rana tigrina (R. tigerina) ฉีดเข้าไปในตัวเมียชนิดเดียวกัน สามารถชักนำให้กบตัวเมียเกิดการตกไข่ได้เช่นเดียวกันกับวิธีการศึกษาของ Mondal (4) ที่ทำการศึกษาในกบชนิด R. crassa นอกจากการศึกษาในกบชนิดดังกล่าวแล้ว ยังมีผู้ทำการศึกษาทดลองในกบตัวเมียอีกหลายชนิด ด้วยการฉีดต่อมใต้สมองของกบต่างชนิดเข้าไป สามารถชักนำให้กบชนิด R. tigrina, R. ribibunda, R. esculenta และ R. nivora เกิดการตกไข่ได้เช่นกัน (5, 6)

นอกจากการใช้ฮอร์โมนดังกล่าวแล้ว มีผู้ที่ทำการศึกษาโดยการนำฮอร์โมน HCG และฮอร์โมนชนิด pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) ฉีดเข้าไปในกบตัวเมียชนิด R. tigrina ในระยะหลังฤดูการผสมพันธุ์ พบว่าฮอร์โมนทั้งสองชนิดสามารถกระตุ้นให้รังไข่ของกบมีการเจริญเกิดขึ้นได้อีก (3, 7)

ในปัจจุบัน ได้มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านทำการศึกษาทดลอง โดยการใช้ฮอร์โมน LH/FSH-RH ฉีดเข้าไปในกบบูลฟร็อก (R. catesbeiana) เพศผู้ ทำให้กบหลั่งอสุจิได้ในเวลาอันรวดเร็ว (8) ในทำนองเดียวกัน ถ้าฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ชนิด gonadotropin releasing hormone (Gn-RH) analogs ให้กับกบบูลฟร็อกเพศผู้ ทำให้กบสามารถหลั่งอสุจิได้ (8) และถ้าฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ (Gn-RH) analogs เข้าไปในกบบูลฟร็อกตัวเมียจะทำให้กบตกไข่ได้เช่นกัน (9, 10)

อย่างไรก็ตาม การทำฟาร์มเพาะเลี้ยงกบนา (Rana tigerina) ในประเทศไทยยังไม่มี ผู้ใดได้ทำการศึกษาและรายงานผลการใช้ฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ ที่สามารถชักนำให้เกิดการตกไข่และการหลั่งน้ำเชื้อ รวมทั้งฉีดกระตุ้นให้กบนาตัวผู้และกบนาตัวเมียจับคู่ผสมพันธุ์เกิดขึ้นในบ่อเลี้ยงได้ ดังนั้นการศึกษาทดลองในครั้งนี้เป็นผลงานวิจัยครั้งแรกที่ทำการศึกษาการใช้ฮอร์โมน

ฉีดเข้าไปในกบนาทั้งสองเพศ เพื่อชักนำให้กบนาผสมพันธุ์กันในบ่อเลี้ยงแทนการใช้สภาพแวดล้อมภายนอกเป็นตัวกระตุ้นให้กบจับคู่ผสมพันธุ์กัน

วิธีดำเนินการทดลอง (ตารางที่ 1)

ทำการคัดเลือกกบพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ที่อายุครบ 12 เดือน (ในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์) โดยวิธีการวัดขนาด ชั่งน้ำหนัก และการตรวจสอบลักษณะภายนอกบางอย่างจำนวน 40 คู่ นำมาฉีดด้วยฮอร์โมนและสารเคมีชนิดต่าง ๆ เข้าช่องท้อง (intraperitoneum)(รูปที่ 1) นำกบมาแบ่งเป็นกลุ่มต่าง ๆ ดังนี้

1. กลุ่มควบคุมจำนวน 10 คู่ ฉีดด้วยน้ำเกลือ (0.75 % NaCl)
2. กลุ่มทดลองจำนวน 30 คู่ แบ่งออกเป็น
   - 2.1 ฉีดด้วยฮอร์โมน HCG จำนวน 10 คู่
   - 2.2 ฉีดด้วยฮอร์โมน PMSG และ HCG จำนวน 10 คู่
   - 2.3 ฉีดด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ Gn-RH analogs จำนวน 10 คู่

ภายหลังการฉีดเข็มที่สองแล้ว ปล่อยกบลงในบ่อขยายพันธุ์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เมตร มีน้ำลึก 15-20 เซนติเมตร (รูปที่ 2) บ่อละ 1 คู่ จากนั้นติดตามผลการตกไข่ (Ovulation) ในบ่อขยายพันธุ์ในระยะเวลา 8-18 ชั่วโมง ติดตามผลการปฏิสนธิภายในบ่อ ในเวลา 48-72 ชั่วโมง และตรวจนับจำนวนของลูกอ๊อดเมื่ออายุได้ 3-5 วัน (รูปที่ 3,4)

ผลการทดลอง (ตารางที่ 2)

ผลการทดลองพบว่า กบนาจำนวน 10 คู่ที่เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ปรากฏว่ามีการตกไข่ (Ovulation) เกิดขึ้น

ส่วนกลุ่มทดลองจำนวน 30 คู่ ผลปรากฏว่า กลุ่มที่ฉีดด้วยฮอร์โมน HCG อย่างเดียว ไม่มีการตกไข่เช่นเดียวกันกับกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ฉีดด้วยฮอร์โมน PMSG และ HCG มีการตกไข่และการปฏิสนธิ 30 เปอร์เซนต์ ส่วนกลุ่มที่ฉีดด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ Gn-RH analogs มีการตกไข่ 100 เปอร์เซนต์ แต่การปฏิสนธิเกิดขึ้นเพียง 50 เปอร์เซนต์ เท่านั้น

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น และเป็นครั้งแรกที่ได้ทำการศึกษาทดลองกับกบนา (Rana tigerina) ในฟาร์มเลี้ยงกบในประเทศไทย ด้วยการใช้สารเคมีชนิดต่าง ๆ ฉีดเข้าไปเพื่อชักนำให้กบนาตกไข่และหลั่งอสุจิ รวมทั้งชักนำให้กบนาจับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยสภาพแวดล้อมภายนอกเป็นตัวกระตุ้น

ผลปรากฏว่า การใช้ฮอร์โมน HCG เพียงอย่างเดียว ไม่สามารถชักนำให้กบตัวเมียตกไข่และมีการจับคู่ผสมพันธุ์เกิดขึ้นได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณของฮอร์โมน HCG ที่ใช้ยังไม่เหมาะสม รวมทั้งอาจมีปัจจัยอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่นระยะเวลาในการฉีด หรือรังไข่ของกบนาตัวเมียยังไม่เจริญเต็มที่ (11) และจากผลที่ได้จากการทดลอง ก็ยังไม่สามารถอธิบายเหตุผลให้ชัดเจนได้

ในทำนองเดียวกัน การฉีดด้วยฮอร์โมน PMSG และ HCG ทำให้การตกไข่และการปฏิสนธิเกิดขึ้นเพียง 30 เปอร์เซนต์ ส่วนการฉีด Gn-RH analogs เข้าไปในกบนา สามารถกระตุ้นให้กบตัวเมียตกไข่ได้ 100 เปอร์เซนต์ แต่มีการปฏิสนธิเพียง 50 % เท่านั้น ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า Gn-RH analogs เป็นฮอร์โมนสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพในการชักนำให้กบนาตัวเมียสามารถตกไข่ได้ดีเช่นเดียวกันกับในกบบูลฟร็อก (10) รวมทั้งสามารถชักนำให้กบนาตัวผู้หลั่งอสุจิได้เช่นเดียวกันกับกบบูลฟร็อกด้วย (9) ส่วนผลของการปฏิสนธิเกิดขึ้นเพียง 50 % นั้น อาจเนื่องด้วยไข่ที่ถูกกระตุ้นให้ตก ยังอยู่ในระยะเวลาที่ไม่สามารถปฏิสนธิได้ (12) หรืออาจเป็นเพราะวิธีการดำเนินการทดลองฉีดฮอร์โมนในตัวผู้และตัวเมียยังไม่เหมาะสม ทำให้กบนาตัวผู้หลั่งอสุจิช้าหรือเร็วเกินไป และไม่ตรงเวลากันกับที่ตัวเมียตกไข่ ซึ่งวิธีการแก้ไขปัญหาเหล่านี้จำเป็นต้องทำการศึกษาหาระยะเวลาที่แน่นอน และระยะเวลาที่เหมาะสมของกบนาตัวผู้ในการหลั่งอสุจิ เพื่อให้สอดคล้องกับระยะเวลาการตกไข่ของกบตัวเมีย ซึ่งจะต้องทำการศึกษาทดลองหาข้อมูลและรายละเอียดต่อไปในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 1 แสดงวิธีดำเนินการทดลองปริมาณฮอร์โมนที่ใช้และขนาดพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ของกบนา ชนิด Tiger-Frog (Rana tigerina)

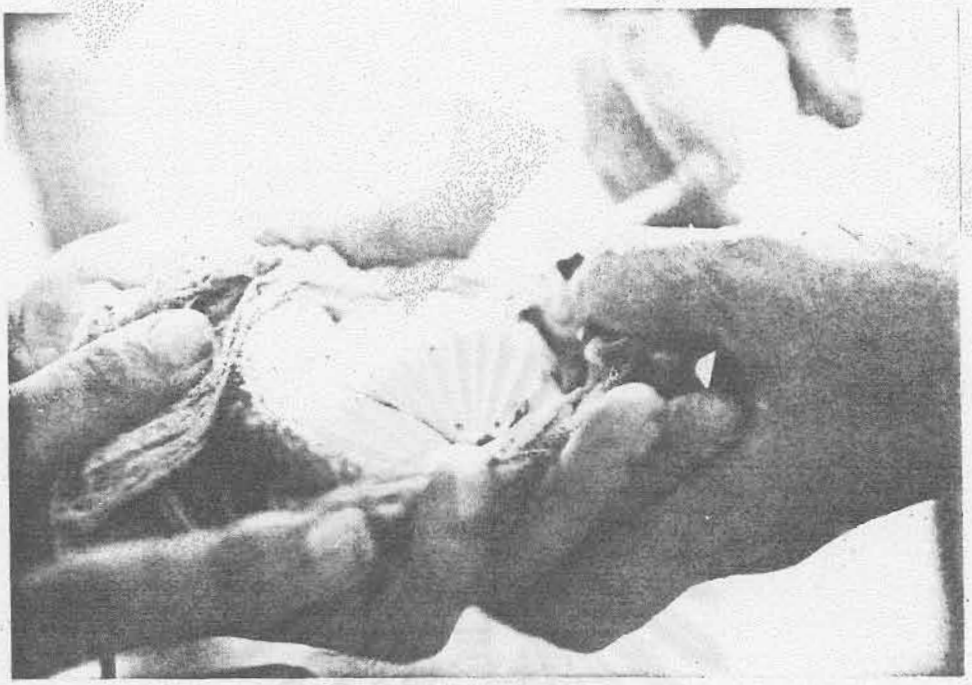
การทดลอง	ปริมาณที่ใช้		ตัวผู้			ตัวเมีย		
	dose 1	dose 2	จำนวนตัว	นน.เฉลี่ย (กรัม) M±SD.	ความยาวตัว เฉลี่ย M±SD.	จำนวนตัว	นน.เฉลี่ย (กรัม) (มม.) M±SD.	ความยาวตัว เฉลี่ย (มม.) M±SD.
1. กลุ่มควบคุม	saline	saline	10	159.38 ±30.15	98.22 ±7.72	10	108.88 ±22.85	89.10 ±7.05
2. กลุ่มทดลอง								
2.1 HCG	100 IU	200 IU	10	174.50 ±41.82	103.30 ±6.60	10	101.37 ±16.26	89.81 ±2.89
2.2 PMSG HCG	50 IU 100 IU	200 IU 200 IU		152.20 ±11.08	100.25 ±6.68	10	106.20 ±20.49	90.66 ±5.52
2.3 Gn-RH analogs	2 µg/Kg. body weight	10 µg/Kg. body weight	10	168.89 ±32.31	102.16 ±10.60	10	103.57 ±18.88	92.00 ±8.27

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

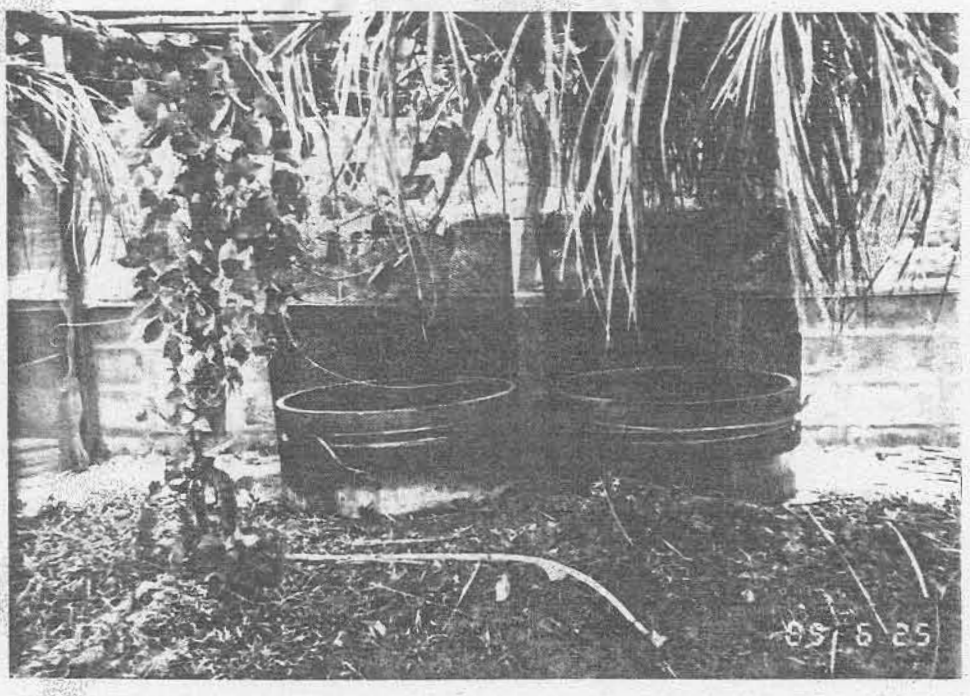
ตารางที่ 2 แสดงผลการทดลองเปอร์เซนต์การตกไข่ (Ovulation) และเปอร์เซนต์การปฏิสนธิ (Fertilization) ของกบนาที่ใช้ฮอร์โมนกระตุ้นให้กบนาจับคู่ผสมพันธุ์ในบ่อขยายพันธุ์

การทดลอง	ปริมาณที่ใช้		เปอร์เซนต์การตกไข่ (Ovulation)	เปอร์เซนต์การปฏิสนธิ (Fertilization)
	dose 1	dose 2		
1. กลุ่มควบคุม (10 คู่)	saline	saline	0	0
2. กลุ่มทดลอง				
2.1 HCG (10 คู่)	100 IU	200 IU	0	0
2.2 PMSG	50 IU	200 IU		
HCG (10 คู่)	100 IU	200 IU	30	30
2.3 Gn-RH analogs (10 คู่)	2 µg/Kg. body weight	10 µg/Kg. body weight	100	50

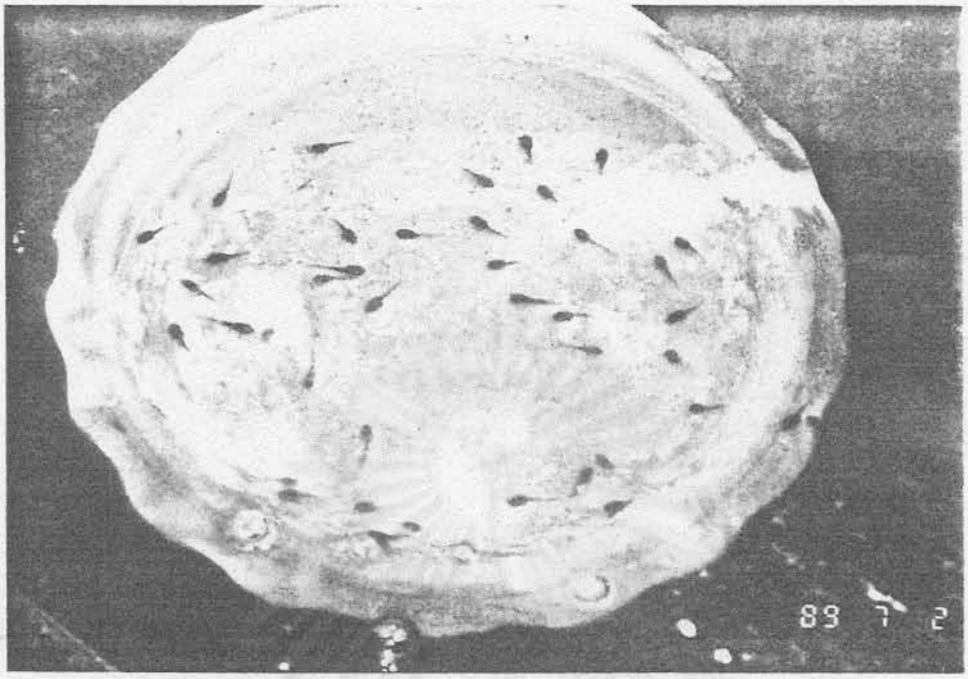
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1 วิธีฉีดฮอร์โมนกบนา (Rana tigerina)



รูปที่ 2 บ่อผสมพันธุ์



รูปที่ 3 ลูกอ๊อดกบนาและการให้อาหาร

รูปที่ 4 ลูกอ๊อดในบ่ออนุบาล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Wright, P.A. and A.R. Flathers 1961. Facilitation of pituitury induced frog ovulation by progesterone in early fall. Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 106 : 346 :349.

2. McKinnell, R.G., D.J. Picciano and R.E. Krieg 1976. Fertilization and development of frog eggs after repeated spermiation induced by human chorionic gonadotropin Laparotomy. Animal Science. 26 (6) : 935-980.

3. Pramoda, S and S.K. Saidapur 1982. Comparative effects of homoplastic pituitary homogenate, HCG and PMSG on follicular development in the frog, Rana tigrina during post-breeding regression phase. Ind. J. Exp. Biol. 20 : 808-810.

4. Mondal, A.K. 1984. CIFRI Technology : Frog seed production, Central Inland Fisheries Research Institute Barrackpore, West Bengal, India : pp. 1-10.

5. Kawamura, T. and M. Nishioka 1986. Hybridization experiments among Rana lessonae, R. ribibunda and R. esculenta, with special reference to hybridogenesis. Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol. Hiroshima Univ., 8 : 117-271.

6. Nishioka, M., H. Ueda and M. Sumida 1987. Intraspecific differentiation of Rana narina elucidated by crossing experiments and electrophoretic analyses of enzymes and blood protein. Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol., Hiroshima Univ. 9 : 261-303.

7. Pramoda, S. and S.K. Saidapur 1984. Preponement of Ovarian follicular development in the frog, Rana tigrina, using PMSG, HCG, growth hormone, heteroplastic pars distalis homogenate, FSH and LH. Ind. J. Exp. Biol. 22: 527-532.

8. Easley, K.A., D.D. Culley, N.D. Horseman N.D. and J.E. Penkala 1979. Environmental influenced on hormone induced spermiation of the bullfrog. Rana catesbeiana. Exp. Zool. 207 : 407-416.

9. McCreery, B.R., P. Licht, R. Barnes, J.E. Rivies and W.W. Vale. 1982. Action of agonistic and antagonistic analogs of gonadotropin releasing hormone (Gn-RH) in the bullfrog Rana catesbeiana, General and Comparative Endocrinology. 46 : 511-520.

10. McCreery, B.R. and P. Licht 1983. Induced ovulation and changes in pituitary responsiveness to continuous infusion of gonadotropin releasing hormone during the ovarian cycle in the bullfrog, Rana catesbeiana. Biol. Reprod. 29 : 863-871.

11. Dumont, J.W. 1972. Oogenesis in Xenopus Laevis Daudin I. Stages of Oocyte development in laboratory maintained animals. J. Morphol. 136 : 153-180.

12. Carr, B.A. and D.D. Culley. 1984. The effect of multiple laparotomies, biopsies and feeding on the oocytes of Rana catesbeiana. Aguaculture. 38 : 329-333.

บทที่ 2

การเจริญระยะ Metamorphosis ของลูกอ๊อดกบนา (*Rana tigerina*)

The Growth and Differentiation (Metamorphosis) of *Rana tigerina* larvae

บทคัดย่อ

การศึกษาการเจริญของลูกอ๊อดกบนาจนถึงขั้นเปลี่ยนแปลง (metamorphosis) เป็นลูกกบเล็กโดยแบ่งออกเป็น 4 ขั้น คือ ระยะลูกอ๊อด ระยะงอกขาหลัง ระยะงอกขาหน้า และระยะลูกกบเล็ก เมื่ออายุ 7, 14, 28 และ 42 วันตามลำดับ พบว่า เมื่ออายุ 7 วัน ลูกอ๊อดทั้งหมดยังไม่งอกขา และมีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 10.05 ± 0.70 มิลลิเมตร เมื่ออายุได้ 14 วัน มีการเจริญในระยะที่ไม่งอกขาและงอกขาหลังในอัตรา 62 % และ 38 % มีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 22.00 ± 0.12 มิลลิเมตร และ 28.21 ± 0.98 มิลลิเมตร เมื่ออายุได้ 28 วัน พบการเจริญ 4 ขั้น คือ ระยะลูกอ๊อด ระยะที่งอกขาหลัง ระยะที่งอกขาหน้า และระยะลูกกบเล็ก ในอัตรา 3.2 %, 27.8 %, 49.8 % และ 19.2 % มีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 16.25 ± 2.06 มิลลิเมตร, 43.80 ± 12.90 มิลลิเมตร, 45.80 ± 4.93 มิลลิเมตร และ 21.39 ± 0.73 มิลลิเมตร และเมื่ออายุได้ 42 วัน พบการเจริญเพียง 3 ขั้น คือ ระยะงอกขาหลัง ระยะงอกขาหน้า และระยะลูกกบ ในอัตรา 10.25 %, 14.56 % และ 75.24 % มีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 51.46 ± 4.30 มิลลิเมตร, 40.30 ± 12.9 มิลลิเมตร และ 20.53 ± 3.18 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Abstract

The growth and metamorphosis of the tadpoles of Rana tigerina can be devided into 4 stages : limb bud stage, foot paddle stage, premetamorphic stage and metamorphic stage at the age of 7, 14, 28 and 42 days. On the 7th day of growth all of the tadpoles are in the limb bud stage which the average body-length 10.05 $\pm$ 0.70 m.m. At 14 day old 62 % of tadpoles are in the limb bud stage and 38 % in the foot paddle stage. The average body-lengths are 22.00 $\pm$ 0.12 m.m. 28.21 $\pm$ 0.88 mm. respectively. At 28th day-old the tadpoles are in 4 stages : limb bud stage, foot paddle stage, premetamorphic stage and metamorphic stage of 3.2 %, 27.8 %, 49.8 % and 19.2 % which the average body-lengths of 16.25 $\pm$ 2.06 m.m., 43.80 $\pm$ 12.90 m.m. 45.80 $\pm$ 4.93 m.m. and 21.39 $\pm$ 0.73 m.m. At 42th day-old the tadpoles are in stages : foot paddle stage, premetamorphic stage and metamorphic stage of 10.25 %, 14.56 % and 75.24 % which the average body-lengths of 51.46 $\pm$ 4.30 m.m., 40.30 $\pm$ 12.90 m.m. and 20.53 $\pm$ 3.18 m.m. respectively.

คำนำ

"กบ" เป็นสัตว์เลือดเย็นประเภทครึ่งบกครึ่งน้ำ มีระยะการเจริญวัยในช่วงหนึ่งที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และกระบวนการเมตาบอลิซึม ที่เรียกว่าระยะ metamorphosis ซึ่งระยะนี้กบจะเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม จากการเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่ในน้ำตลอดเวลา และหายใจด้วยเหงือก กลายเป็นสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำหายใจด้วยปอด และมีผิวหนังเปียกชื้นอยู่ตลอดเวลา

ในการศึกษาการเจริญขั้นต่าง ๆ ของระยะ metamorphosis ในสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำได้มีผู้ทำการศึกษากันมานาน ซึ่งได้แก่ การศึกษาการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำในกลุ่มของ Anuran (1) การศึกษาการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในกบชนิด Rana pipiens (2, 3 และ 4) กบชนิด Rana sylvatica (5) และกบบูลฟร็อก (Rana catesbeiana) (6)

นอกจากจะมีผู้ทำการศึกษาขั้นตอนการเจริญต่าง ๆ ของกบในระยะ metamorphosis ในกบหลาย ๆ ชนิดแล้ว ยังมีผู้ที่ทำการศึกษาผลของปัจจัยอื่น ๆ และสภาพแวดล้อมที่มีต่อระยะเวลาของการเจริญของลูกอ๊อดในช่วง metamorphosis อีกด้วย ปัจจัยที่สำคัญเหล่านั้นได้แก่ ฮอร์โมน (7, 8 และ 9) และอุณหภูมิจะมีผลต่อเนื่องทำให้มีผลในการเปลี่นแปลงของระยะเวลาของการเจริญในระยะ metamorphosis ด้วย (9)

อย่างไรก็ตาม กบนา Rana tigerina ซึ่งเป็นกบที่พบอยู่ในประเทศไทย และมีผู้นิยมนำมาเลี้ยงในฟาร์ม ยังไม่มีผู้ใดได้ทำการศึกษาขั้นตอนและระยะเวลาของการเจริญในระยะ metamorphosis มาก่อน ดังนั้นการศึกษาทดลองในครั้งนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาระยะเวลาและขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงระยะ metamorphosis ของลูกอ๊อดกบนาที่เลี้ยงในฟาร์มในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ โดยแบ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของลูกอ๊อดออกเป็น 4 ขั้นใหญ่ ๆ คือ ระยะที่ยังไม่งอกขา ระยะที่มีการงอกขาหลัง ระยะที่มีการงอกขาหลังและขาหน้า ระยะเป็นลูกกบเล็ก

วิธีดำเนินการทดลอง

ทำการคัดขนาดลูกอ๊อดที่เท่า ๆ กันที่ได้จากการผสมด้วยการฉีดฮอร์โมน เมื่ออายุได้ 7 วัน นำมาวัดความยาวของลำตัวจากปลายจมูก (snout) จนถึงปลายหาง (tail) จากนั้นปล่อยลงในบ่ออนุบาลขนาด 6 ตารางเมตร บ่อละ 500 ตัว จำนวน 3 บ่อ แต่ละบ่อมีน้ำลึก 20 เซนติเมตร อุณหภูมิน้ำเฉลี่ยประมาณ 30 องศาเซลเซียส ให้อาหารด้วยปลาสดบดวันละ 2 เวลา เช้าและเย็น

ทำการตรวจสอบขั้นตอนการเจริญของลูกอ๊อดระยะต่าง ๆ เมื่อลูกอ๊อดอายุได้ 7, 14, 28 และ 42 วันตามลำดับ โดยแบ่งออกเป็น 4 ขั้นใหญ่ ๆ (ตามหลักของ Taylor และ Kollros 1946) ได้แก่

1. ระยะยังไม่งอกขา (Limb bud Stage) (รูปที่ 1)
2. ระยะงอกขาหลัง (Foot paddle Stage) (รูปที่ 2)
3. ระยะงอกขาหลังและขาหน้า (Premetamorphic Stage) (รูปที่ 3)
4. ระยะหางหดหมด (Metamorphic Stage) (รูปที่ 4)

จากนั้นนับจำนวนลูกอ๊อดในขั้นต่าง ๆ นำมาคิดเป็นเปอร์เซนต์

การวัดขนาดความยาวของลำตัว ทำเช่นเดียวกันกับการศึกษาระยะการเจริญของลูกอ๊อด โดยนำลูกอ๊อดระยะต่าง ๆ เมื่ออายุ 7, 14, 28 และ 42 วัน นำมาวัดขนาดความยาวลำตัวของแต่ละกลุ่มแล้วนำไปหาค่าความยาวของลำตัวเฉลี่ย

ผลการศึกษา

จากการศึกษาโดยอาศัยหลักเกณฑ์ของ Taylor และ Kollros (1946) พบว่าเมื่อลูกอ๊อดมีอายุได้ 7 วัน ลูกอ๊อดทั้งหมดยังไม่มีการงอกขาหลัง เมื่ออายุได้ 14 วันพบว่าลูกอ๊อดมีการเจริญเพิ่มขึ้นอีก 1 ขั้น คือ ระยะที่งอกขาหลัง 38 เปอร์เซนต์ และยังไม่งอกขา 62 เปอร์เซนต์ ลูกอ๊อดอายุได้ 28 วัน พบว่า ลูกอ๊อดมีการเจริญครบทั้ง 4 ระยะ คือ ระยะที่ยังไม่งอกขาหลัง 3.20 เปอร์เซนต์ ระยะงอกขาหลัง 27.80 เปอร์เซนต์ มีขาหลังและขาหน้าแต่หางยังไม่หด 49.8 เปอร์เซนต์ ระยะลูกกบเล็ก (Froglets) 19.2 เปอร์เซนต์ และเมื่ออายุได้ 42 วัน พบว่าลูกอ๊อดมีการเจริญเพียง 3 ระยะ คือ ระยะงอกขาหลัง 10.25 เปอร์เซนต์

ระยะงอกขาหน้าแต่หางยังไม่หด 14.51 เปอร์เซนต์ และระยะลูกกบเล็ก 75.24 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ (Fig I และ ตารางที่ 1)

ผลการศึกษาจากการวัดขนาดความยาวลำตัวของลูกอ๊อดในระยะที่มีการเจริญขั้นต่าง ๆ พบว่า เมื่ออายุ 7 วัน ลูกอ๊อดมีขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 10.65 ± 0.70 มิลลิเมตร เมื่ออายุ 14 วัน มี 2 ขั้น คือ ระยะยังไม่มีขามีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 22.00 ± 0.12 มิลลิเมตร และระยะที่มีขาหลังมีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 28.21 ± 0.98 มิลลิเมตร เมื่ออายุ 28 วัน พบลูกอ๊อดทั้ง 4 ระยะ คือ ระยะไม่มีขาหลังมีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 16.25 ± 2.06 มิลลิเมตร ระยะมีขาหลังมีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 43.80 ± 4.93 มิลลิเมตร ระยะที่งอกขาหน้าหางยังไม่หดมีความยาวลำตัวเฉลี่ย 45.80 ± 4.93 มิลลิเมตร และกลายเป็นลูกกบเล็ก ซึ่งมีความยาวลำตัวเฉลี่ย (โดยวัดจากปลายจมูกถึงปลายทวาร) เท่ากับ 21.39 ± 0.73 มิลลิเมตร และเมื่ออายุได้ 42 วัน มีลูกอ๊อดระยะต่าง ๆ อยู่เพียง 3 ระยะ คือ ระยะที่มีขาหลัง มีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 51.46 ± 4.30 มิลลิเมตร ระยะที่งอกขาหน้าแต่หางยังไม่หดมีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 40.30 ± 12.9 มิลลิเมตร และระยะลูกกบเล็กมีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 20.53 ± 3.18 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1)

<u>สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา</u>

จากผลการศึกษาอัตราการเจริญของระยะ Metamorphosis ของลูกอ๊อดกบนา (<u>Rana tigerina</u>) ในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของกบนา เริ่มตั้งแต่ระยะจากไข่จนกลายเป็นลูกกบเล็ก (Froglets) ลูกอ๊อดสามารถเจริญไปเป็นลูกกบเล็กได้ตั้งแต่อายุประมาณ 28 วัน แต่โดยเฉลี่ยแล้วอัตราการเจริญในระยะ Metamorphosis ในฤดูกาลสืบพันธุ์ ลูกอ๊อดจะกลายเป็นลูกกบเล็กโดยใช้เวลาประมาณ 36-45 วัน ที่อุณหภูมิของสภาพแวดล้อม น้ำ และอากาศโดยเฉลี่ยประมาณ 30-32 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญระยะ Metamorphosis ของกบชนิดอื่น ได้แก่ กบบูลฟร็อก (<u>Rana catesbeiana</u>) ที่เลี้ยงในฟาร์มเลี้ยงในประเทศไทย กบบูลฟร็อกจะใช้ระยะเวลาประมาณ 75-90 วัน (นอกจากนี้จากการศึกษาอื่นถึงการเลี้ยงกบบูลฟร็อกในต่างประเทศ ยังพบว่าระยะเวลาการเจริญช่วง Metamorphosis ของกบบูลฟร็อกอาจจะนานกว่า 75-90 วัน ทั้งนี้มีผลเนื่องมาจากปัจจัยอื่น ๆ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

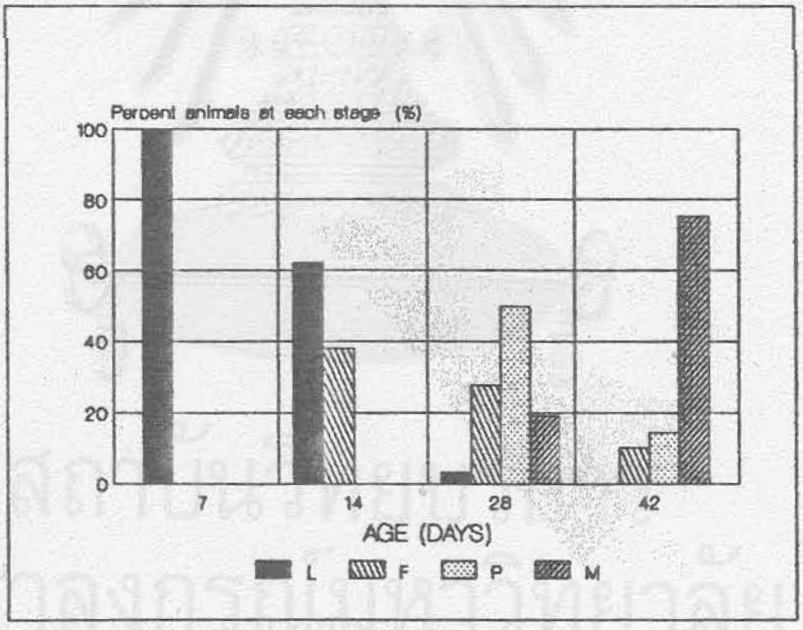
ตารางที่ 1 แสดง % ของการเจริญของลูกอ๊อดกบนาตามวิธีของ Taylor และ Kollros (1946)

อายุ (วัน)	การเจริญของลูกอ๊อดระยะต่าง ๆ (Taylor และ Kollros 1946, Viparina และ Just 1975)	% ระยะต่าง ๆ ของลูกอ๊อด	ความยาวของลำตัว (ม.ม.) M ± SD
7	Limb bud stages (I)	100.00	10.05 ± 0.70
	Foot paddle stages (IX)	-	-
	Premetamorphic stages (XX)	-	-
	Metamorphic (XXV)	-	-
14	I	62.00	22.00 ± 0.12
	IX	38.00	28.21 ± 0.98
	XX	-	-
	XXV	-	-
28	I	3.20	16.25 ± 2.06
	IX	27.80	43.80 ± 12.9
	XX	49.80	45.80 ± 4.93
	XXV	19.20	21.39 ± 0.73
42	I	-	-
	IX	10.25	51.46 ± 4.30
	XX	14.56	40.30 ± 12.9
	XXV	75.24	20.53 ± 3.18

เข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ อาหาร อุณหภูมิฮอร์โมน และความหนาแน่น (7, 8, 9) ที่ทำให้ช่วงระยะเวลาของการเจริญระยะ Metamorphosis อาจเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันไปได้) ซึ่งจากการศึกษาในกบนาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่าการเจริญระยะ Metamorphosis ของกบนาจะใช้ระยะเวลาสั้นกว่ากบบางชนิด ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้อาจจะนำไปเป็นประโยชน์ในการที่จะนำไปใช้ศึกษาและพัฒนาวิธีการเลี้ยงกบในฟาร์มให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น รวมทั้งนำไปใช้ในการพัฒนาที่จะทำให้กบในฟาร์มเลี้ยงมีการเจริญเติบโตอย่างเหมาะสมมีผลผลิตสูงและต่อเนื่องตลอดปี

Fig. I Frequency distribution of Rana tigerina

Stages in the development (Taylor-Kollros ,1946)

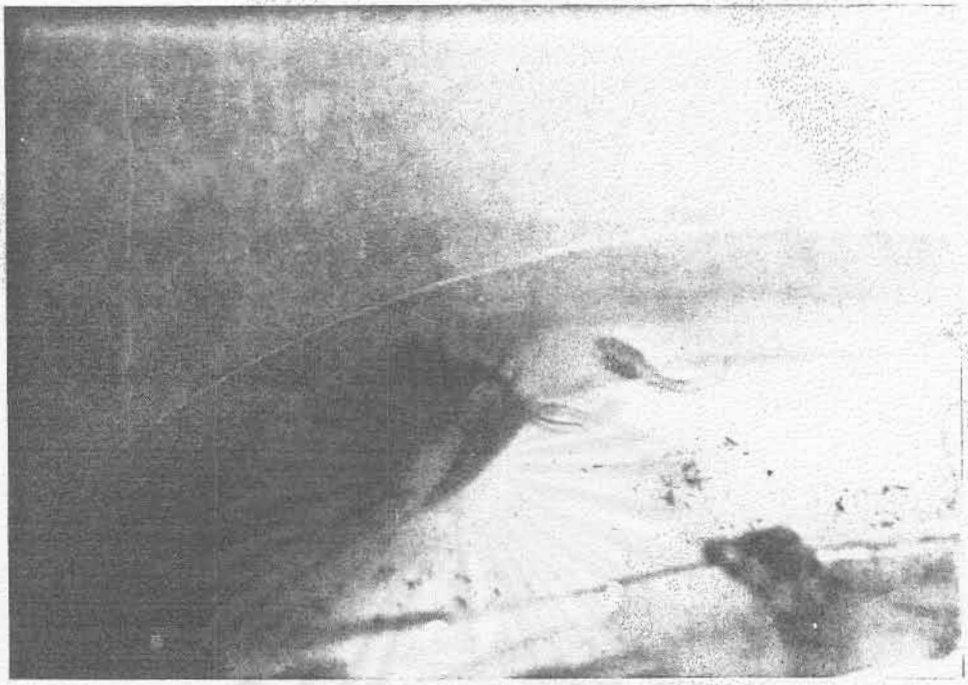


L : Limb bud stage

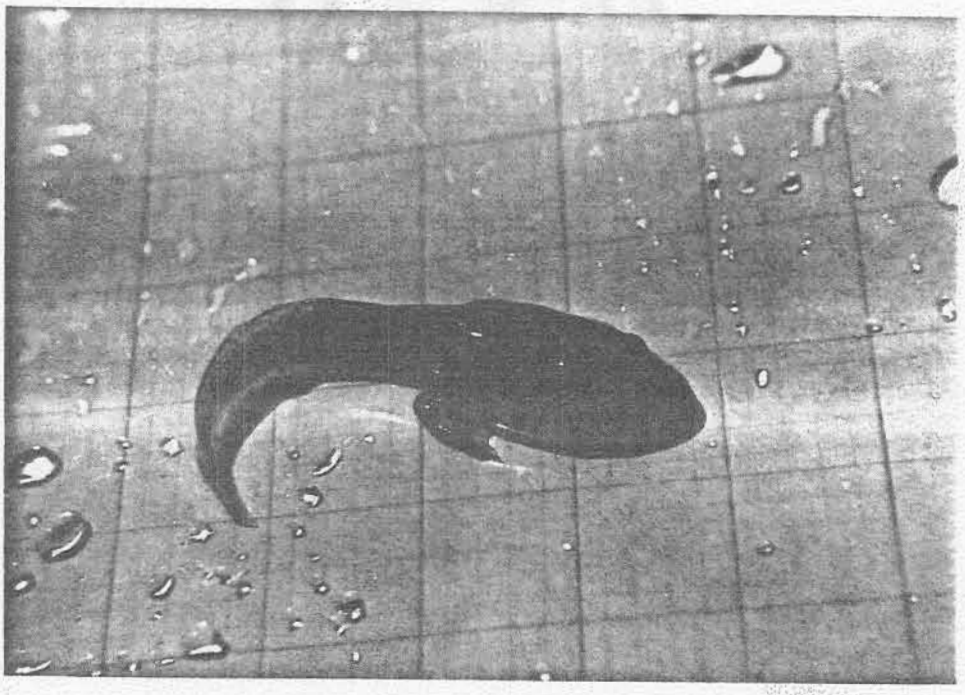
F : Foot paddle stage

P : Premetamorphic stage

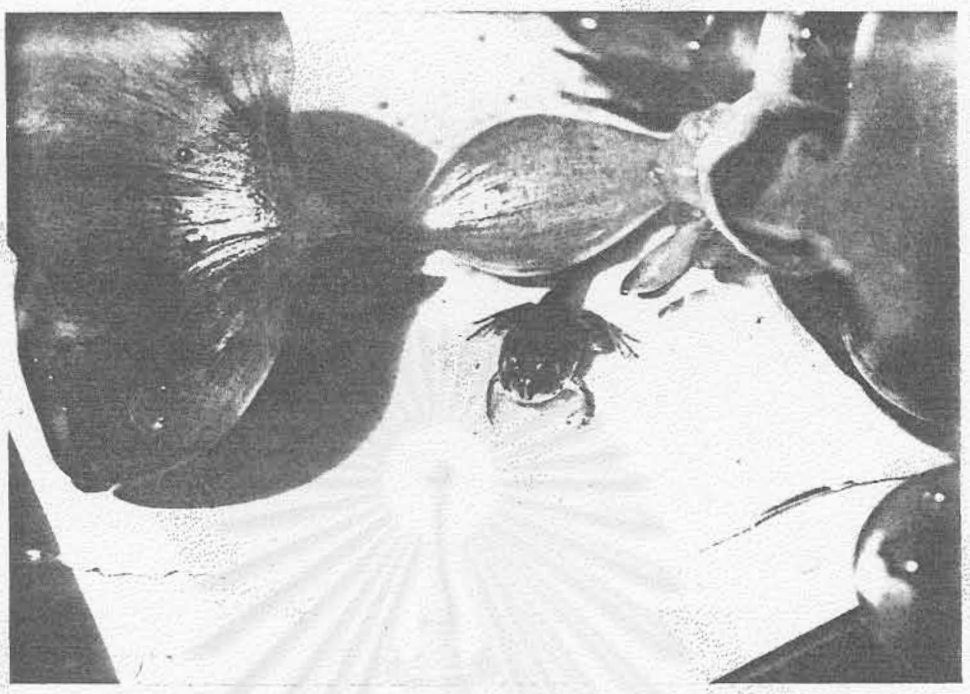
M : Metamorphic stage



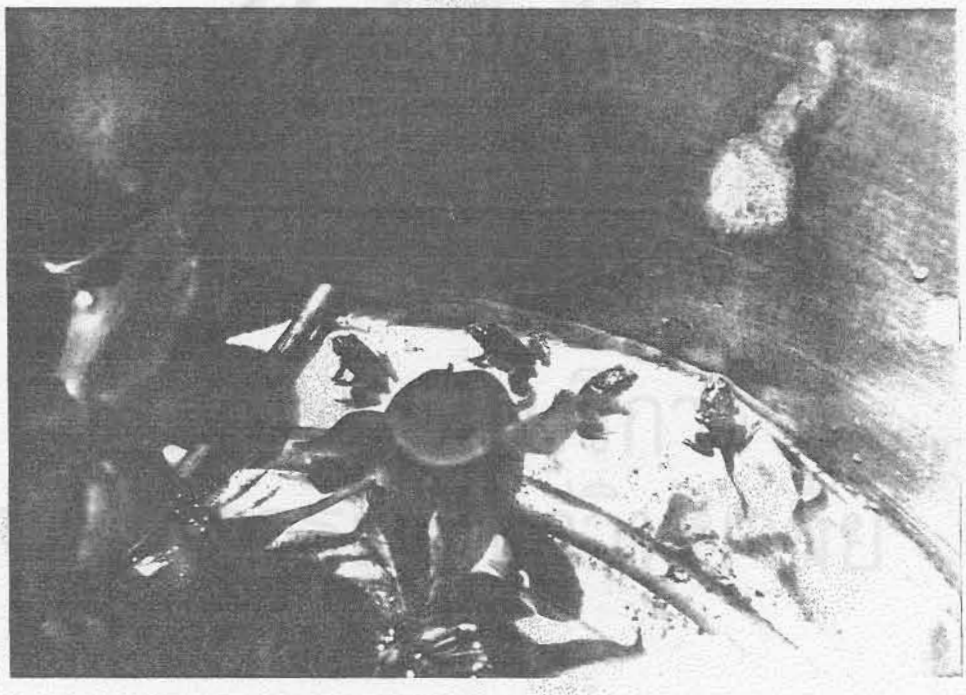
รูปที่ 1 ลูกอ๊อดระยะไม่งอกขา (Limb bud stage)



รูปที่ 2 ลูกอ๊อดระยะงอกขาหลัง (Foot paddle stage)



รูปที่ 3 ลูกอ๊อดระยะงอกขาหลังและขาหน้า (Premetamorphic stage)



รูปที่ 4 ลูกกบเล็กระยะหางหดหมด (Metamorphic stage)
และลูกกบเล็กที่หางหดไม่หมด

เอกสารอ้างอิง

1. Etkin, W. 1932. Growth and resorption phenomena in Anuran metamorphosis I. Physical. Zool. Vol. 5 : 275-300.

2. Emmett, A.D., and F.P. Allen 1919. Nutritional Studies on the growth of frog larvae (Rana pipiens). J. Biol. Chem., Vol 38 : 325-344.

3. Shumway, W. 1940. Stages in the normal development of Rana pipiens. I. External form. Anat. Rec., Vol. 78 : 139-144.

4. Taylor, A.C., and J.J. Kollros 1946. Stages in the normal Development of Rana pipiens larvae. Anat. Rec., Vol. 44 : 70-23.

5. Pollisher, A.W., and J.A. Moore 1937. Tables for the normal development of Rana sylvatica. Anat. Rec., 68 : 489-493.

6. Viparina, S., and J.J. Just 1975. The Life Period, Growth and Differentiation of Rana catesbeiana larvae Occurring in Nature. Copeia. Vol. 1 : 103-109.

7. Cohen, P.P. 1966. Biochemical aspects of metamorphosis : Transition from ammonotelism to urotelism Harvey Lectures. Ser. 60 : 119-164.

8. Bowers, C.Y., A. Segaloff and B. Brown 1959. Factors affacting the thyroid gland uptake of I^{131} of the Rana catesbeiana tadpoles. Endocrinology. 65 : 882-888.

9. Ashley, H.P. Katti and E. Frieden. 1968. Urea excretion in the bull frog tadpole. Effect of temperature, metamorphosis and thyroid hormones. Devel. Biol. 17 : 293-307.

บทที่ 3

พฤติกรรมการสืบพันธุ์และอัตราการอยู่รอดของกบภูเขา (Rana blythii Boulenger) ในบ่อเลี้ยง

บทคัดย่อ

การเลี้ยงกบภูเขาในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพคล้ายคลึงธรรมชาติ พบว่ากบสามารถอาศัยอยู่ได้ดี มีการสืบพันธุ์ตลอดฤดูกาล (พฤศจิกายน-พฤษภาคม) แต่ยังคงกินอาหารที่เคลื่อนไหว มีการเจริญของเอมบริโอจากไข่กลายเป็นลูกอ๊อดใช้เวลาประมาณ 3 วัน ที่อุณหภูมิน้ำ 30 °C และลูกอ๊อดเจริญเป็นลูกกบเล็กในเวลาประมาณ 45 วัน

Abstract

The mature giant-frog (Rana blythii) was rearing in a natural simulated pond. It was observed that the frogs could survive and maintain their normal behaviors and animals fed only on living food. Mating occured throughout breeding season (November-May). Fertilized eggs developed into tadpoles within 3 days at 30 °C. Metamorphosis of the tadpoles into froglets took 45 days.

คำนำ

กบภูเขา หรือกบทูด หรือเขียดแลว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Rana blythii Boulenger เป็นกบขนาดใหญ่เป็นที่สองของโลก อาศัยอยู่ตามร่องน้ำ ลำธาร ตามแนวเทือกเขาตะนาวศรี ด้านทิศตะวันตกของประเทศไทยที่ติดต่อกับประเทศพม่า ตั้งแต่ทางตอนเหนือตลอดไปจนถึงตอนใต้ และเลยลงไปจนถึงประเทศมาเลเซีย (1, 2, 3)

ลักษณะทั่วไป เป็นกบขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ หัวมีลักษณะรูปไข่มีความยาวมากกว่าความกว้าง รูจมูกค่อนไปทางปลายสุดของปลายจมูกมากกว่าส่วนตา แผ่นหู (tympanum) เห็นชัดเจนอยู่ด้านหลังของตา ผิวหนังเรียบลื่นคล้ายเขียดมีสีน้ำตาลปนเขียวไปจนถึงสีน้ำตาลคล้ำ สีผิวปกติจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับแหล่งและบริเวณที่อยู่อาศัย ด้านล่างใต้คางมีลายหรือไม่มีลายจุด ริมฝีปากมีลายขีดเล็ก ๆ สีดำ ด้านในริมฝีกปากมีติ่งเนื้อยาวคล้ายเขี้ยว 1 คู่ ในตัวผู้จะมีขนาดยาวกว่าตัวเมีย แขนและขามีลายเส้นสีน้ำตาลเข้มพาดขวาง ในบางแหล่งอาจพบว่าบนหลังมีเส้นสีขาวพาดยาวกลางหลังตั้งแต่ปากไปจนถึงก้น (1, 4)

กบภูเขาที่โตเต็มที่และพร้อมที่จะสืบพันธุ์ตัวผู้จะมีขนาดใหญ่กว่าตัวเมีย (4 และ 5) อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ประกอบด้วยอัณฑะ 1 คู่ และมีกระบวนการสร้างอสุจิที่เสร็จสิ้นสมบูรณ์ภายในอัณฑะเช่นเดียวกับกบชนิดอื่น อวัยวะสืบพันธุ์ตัวเมียประกอบด้วย รังไข่ มีลักษณะเป็นพู ข้างในกลวง มีส่วนต่าง ๆ ที่สำคัญ คือ ovarian follicle, follicular cells และ Oocytes เป็นต้น (5)

การสืบพันธุ์ และการกินอาหาร กบใหญ่ในธรรมชาติจะกินอาหาร ได้แก่ แมลง กุ้ง หอย ปู ปลา และสัตว์อื่น ๆ ที่มีขนาดเล็กกว่าตัวเอง ปกติจะออกหากินในเวลากลางคืนโดยเฉพาะในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์จะออกจากแหล่งที่ซ่อนเป็นจำนวนมาก การผสมพันธุ์ของกบภูเขาจะผสมพันธุ์และวางไข่ตั้งแต่ปลายฤดูฝนตลอดไปจนถึงฤดูหนาว และอาจเลยไปถึงต้นฤดูแล้งด้วย พฤติกรรมการสืบพันธุ์ของกบภูเขาจะแตกต่างไปจากกบชนิดอื่น ๆ โดยตัวเมียจะไข่ลงในหลุมกรวดที่ตัวผู้ทำการขุดเตรียมไว้ในบริเวณร่องน้ำไหลที่มีความลึกไม่มากนัก ลักษณะหลุมไข่จะเป็นกอง

กรวดนูนเป็นวงกลม 2 ชั้น วงในมีขนาดประมาณ 25-45 เซนติเมตร วงนอกมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 40-70 เซนติเมตร (3)

การเจริญของตัวอ่อน ไข่ที่ผสมแล้วจะเจริญอยู่ในภายในหลุมกรวดจนกลายเป็นลูกอ๊อดซึ่งจะอาศัยอยู่ภายในหลุมนั้น ลูกอ๊อดมีรูปร่างเรียวยาว แข็งแรง ว่องไวปราดเปรียว ว่ายน้ำรวดเร็วมาก มีลำตัวด้านบนหลังแบน ตาและรูจมูกอยู่ไปทางด้านบนข้างหลังปาก มุมด้านขอบข้างริมฝีปากล่างมีติ่งเนื้อเรียงเป็นแถว รูหายใจ (spiracle) ตั้งอยู่ทางซีกซ้ายของลำตัวอยู่กึ่งกลางระหว่างตากับโคนขาหลัง Cloaca อยู่ทางซีกขวา และเปิดออกสู่ภายนอกตรงบริเวณใกล้ขอบครีบท้อง ปลายหางค่อนข้างมนแหลม ลำตัวมีสีน้ำตาลอ่อน ลายกระ และมีจุดดำเรียงเป็นแถวจากลูกตา (2)

ดังที่กล่าวมาแล้วว่ากบภูเขาเป็นกบที่มีขนาดใหญ่ เนื้อมีรสชาดดีจึงมีผู้นิยมจับไปเป็นอาหารโดยเฉพาะในช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ที่กบภูเขาออกจากแหล่งที่ซ่อนเพื่อออกมาหาที่ผสมพันธุ์เป็นจำนวนมาก ประกอบกับการพัฒนาประเทศที่นำความเจริญเข้าไปสู่ชนบท การตัดไม้ ถางป่า ถางพง เพื่อบุกเบิกแหล่งที่ทำมาหากินใหม่ มีผลทำให้แหล่งที่อยู่อาศัยของกบภูเขาถูกทำลายไปด้วย ด้วยปัจจัยทั้งสองอย่างนี้ประกอบกัน มีผลทำให้กบภูเขาในบางแหล่งลดน้อยลงไปจนเกือบจะสูญพันธุ์ ดังนั้นเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุ์และสงวนทรัพยากรธรรมชาติให้คงอยู่ต่อไป กบภูเขาจึงถูกกำหนดให้เป็นสัตว์ป่าคุ้มครองประเภทที่ 2 (6)

อย่างไรก็ตาม กบภูเขาเป็นสัตว์ป่าและเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีคุณค่ามีประโยชน์ทั้งโดยทางตรงหรือโดยทางอ้อม ต่อระบบนิเวศเศรษฐกิจและสังคม การที่จะรักษาพันธุ์กบภูเขาไว้ได้นั้น การศึกษาลักษณะชีววิทยาต่าง ๆ ของกบภูเขาจึงเป็นสิ่งสำคัญ แต่เนื่องจากมีผู้ที่ทำการศึกษาชีววิทยาของกบภูเขาน้อยมาก โดยเฉพาะเรื่องการสืบพันธุ์ การเจริญเติบโต การเลี้ยงและการขยายพันธุ์ ซึ่งลักษณะเหล่านี้เป็นลักษณะสำคัญของสิ่งมีชีวิตในการที่จะทำให้สามารถ ดำรงเผ่าพันธุ์ให้คงอยู่ต่อไปได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ จึงทำขึ้นเพื่อทดลองเลี้ยงกบภูเขาในบ่อเลี้ยงโดยวิธีธรรมชาติ ศึกษาความสามารถในการอยู่รอด และพฤติกรรมการสืบพันธุ์

ในบ่อเลี้ยงรวมทั้งการเจริญของลูกอ๊อด ทั้งนี้เพื่อนำข้อมูลที่ได้นำไปใช้เป็นประโยชน์ในด้านการเพาะเลี้ยง การขยายพันธุ์ และการผสมเทียม ในการที่จะนำเอาเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป อันจะนำไปถึงซึ่งการอนุรักษ์พันธุ์กบภูเขาไว้ได้

วิธีดำเนินการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง บ่อเลี้ยงอยู่ในบริเวณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยทรายอันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี

ลักษณะบ่อเลี้ยง บ่อขนาด 6 เมตร x 7.50 เมตร ภายในปรับสภาพเลียนแบบธรรมชาติ มีน้ำตก ร่องน้ำ และระบบน้ำไหลเวียน ร่องน้ำปูพื้นด้วยกรวดขนาดต่าง ๆ กัน ระบบการหมุนเวียนของน้ำติดตั้งแบบอัตโนมัติระหว่างเวลา 18.00 น. ถึง 24.00 น. ทุกวัน พื้นที่ภายในอื่น ๆ ปลูกพืชคลุมพื้นบ่อเพื่อให้เกิดความร่มครึ้ม และติดตั้งระบบปิดเปิดไฟล่อแมลงแบบอัตโนมัติในเวลาเดียวกับระบบน้ำ

พันธุ์ที่นำมาเลี้ยง กบพ่อพันธุ์แม่พันธุ์เป็นกบที่โตเต็มที่จากธรรมชาติ จับมาจากจังหวัดกาญจนบุรี ในเดือนพฤศจิกายน 2531 จำนวน 56 ตัว นำมาปล่อยในบ่อเลี้ยงโดยทำการชั่งน้ำหนักก่อนปล่อยลงบ่อ (รูปที่ 1 และตารางที่ 1)

การให้อาหาร เนื่องจากกบที่นำมาเลี้ยงเป็นกบที่โตเต็มวัยมาจากธรรมชาติ ดังนั้นการให้อาหารจึงให้แบบกึ่งธรรมชาติ คือ

1. การติดไฟล่อแมลง เพื่อให้กบจับแมลงกินเอง
2. นำลูกปลานิล และปลาไนขนาด 2-3 เซนติเมตร ปล่อยลงในร่องน้ำ (ทุก 2 สัปดาห์) เพื่อให้กบจับกิน

การเก็บข้อมูลต่าง ๆ ได้แก่

1. ศึกษาพฤติกรรมการกินอาหาร
2. ศึกษาพฤติกรรมการสืบพันธุ์
3. ศึกษาการเจริญของตัวอ่อนระยะ metamorphosis

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

1. กล้องถ่ายรูป
2. กล้องถ่าย Video
3. อ่างเลี้ยงปลาพร้อมอุปกรณ์ให้ออกซิเจน
4. และอุปกรณ์อื่น ๆ

ผลการศึกษา

1. พฤติกรรมการกินอาหาร พบว่ากบจะกินอาหารที่เคลื่อนไหวไม่กินอาหารนิ่ง

1.1 การหาอาหารกินเองโดยวิธีธรรมชาติ กบภูเขาจะเริ่มออกจากที่ซ่อนในช่วงตอนพลบค่ำ ส่วนใหญ่จะเข้ามาอยู่ใกล้ ๆ กับบริเวณที่ติดไฟล่อแมลงไว้ โดยจะอยู่ทั้งบนบกและในน้ำ เมื่อมีแมลงหรืออาหารผ่านเข้ามากบจะกระโดดงับและจับกินทันที

1.2 การทดลองให้อาหาร กรณีที่ 1 ให้ปลาสับวางบนกระดานลอยน้ำไว้ ปรากฏว่ากบไม่กิน ทั้งนี้อาจจะไม่คุ้นเคยกับอาหารที่ไม่เคลื่อนที่ กรณีที่ 2 โดยวิธีนำแมลงด้วงปีกแข็งขนาดใหญ่เป็น ๆ โยนลงไปในร่องน้ำ เมื่อแมลงลอยน้ำผ่านไปกบจะกระโดดเข้าแย่งและงับกินทันที (รูปที่ 2) ซึ่งกรณีที่ 2 นี้แมลงยังมีชีวิตอยู่ และมีการเคลื่อนไหวส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย

2. พฤติกรรมการสืบพันธุ์ พบว่ากบสามารถสืบพันธุ์ได้ดีในบ่อเลี้ยง

2.1 จากการศึกษาพบว่า กบที่นำมาปล่อยในบ่อเลี้ยงในเดือนพฤศจิกายน 2531 เริ่มผสมพันธุ์ครั้งแรกในเดือนธันวาคม 2531 ครั้งที่ 2 เดือนมกราคม 2532 ครั้งที่ 3 เดือนมีนาคม 2532 และครั้งที่ 4 เดือนพฤษภาคม 2532 (ตารางที่ 2)

2.2 พฤติกรรมการผสมพันธุ์ เริ่มจากตัวผู้ออกจากที่ซ่อนมาหาแหล่งผสมพันธุ์ ซึ่งเป็นบริเวณร่องน้ำใกล้ ๆ ที่มีน้ำตกไหลริน (รูปที่ 3) จากนั้นจะส่งเสียงร้อง โดยวิธีการพองตัวให้ลมเข้า แล้วปล่อยลมออกทางปากจะทำให้เกิดเสียง ซึ่งบางครั้งพบว่ามีกบตัวอื่นกระโดดออกมาด้วย จากนั้นกบตัวแรกยังคงส่งเสียงร้องเช่นเดิม และจะเริ่มแสดงความเป็นเจ้าของอาณาเขตที่จะผสมพันธุ์ทำให้กบตัวอื่นหลบไป จากนั้นตัวผู้จะเริ่มใช้เท้าคู่หลังถีบกรวดออกจากกันให้กลายเป็นหลุม

และหมุนตัวไปรอบ ๆ พร้อมกับจะส่งเสียงร้องเรียกตัวเมีย เมื่อตัวเมียออกมาตัวผู้จะเข้าจับคู่ประกบคู่ผสมพันธุ์ โดยที่ทั้งตัวผู้และตัวเมียจะหมุนตัวไปรอบ ๆ (รูปที่ 4) ตัวเมียจะวางไข่ ตัวผู้จะปล่อยน้ำเชื้อผสมกันเป็นชุด ๆ เมื่อเสร็จสิ้นแต่ละชุด ตัวผู้จะผละออกจากตัวเมีย ปล่อยให้ตัวเมียใช้เท้าหลังถีบกรวดเพื่อกลบไข่ จากนั้นตัวผู้จะเข้าประกบคู่ผสมพันธุ์ใหม่อีก และจะหมุนตัวไปรอบ ๆ แบบไม่มีทิศทาง ทำอยู่อย่างนี้เรื่อยไปจนเสร็จสิ้นการผสมพันธุ์ ทั้งตัวผู้และตัวเมียจะช่วยกันกลบหลุมอีกครั้งก่อนแยกย้ายกันไป สำหรับระยะเวลาในการผสมพันธุ์ทั้งหมดกินเวลาประมาณ 4-6 ชั่วโมง

3. <u>การเจริญของเอมบริโอ</u> ผลการศึกษาปรากฏว่า

3.1 ไข่ที่ได้จากการผสมพันธุ์ครั้งที่ 1, 2 และ 3 เมื่อเปิดหลุมเพื่อดูการเจริญหลัง 7 วัน พบว่าไข่ไม่เจริญเป็นลูกอ๊อด และมีตะกอนติดอยู่ตามเยลลี่ของไข่ จากการผสมครั้งที่ 4 (หลังจากมีการปรับสภาพน้ำแล้ว) ผลปรากฏว่าไข่เจริญเป็นลูกอ๊อดในระยะเวลาประมาณ 3 วัน ลูกอ๊อดที่จับได้มี ขนาดประมาณ 0.06 เซนติเมตร (ตารางที่ 2)

3.2 การเปรียบเทียบอัตราการเจริญของลูกอ๊อดที่นำมาเลี้ยงในอ่างเลี้ยงปลา โดยให้อาหารปลาสดบด และลูกอ๊อดที่ปล่อยให้เจริญเติบโตตามธรรมชาติในบ่อเลี้ยง ผลปรากฏว่าลูกอ๊อดที่เจริญเติบโตตามธรรมชาติในบ่อเลี้ยง มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าลูกอ๊อดที่นำมาเลี้ยงในอ่างเลี้ยง (ตารางที่ 3) (รูปที่ 5 และ 6) และจากการติดตามผลการเจริญเติบโตของลูกอ๊อดกบรุ่นนี้ในบ่อเลี้ยงพบว่าลูกอ๊อดสามารถเจริญกลายเป็นลูกกบเล็กในระยะเวลาประมาณ 45 วัน ที่อุณหภูมิของน้ำประมาณ 30 °เซลเซียส

<u>สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา</u>

1. กบภูเขา หรือกบทูด หรือเขียดแลว ที่พบอาศัยอยู่ตามแนวเทือกเขาตะนาวศรีทางด้านทิศตะวันตกของประเทศไทยตั้งแต่เหนือไปจรดใต้ พบว่าในปัจจุบันแนวโน้มมีขนาดเล็กลง ขนาดใหญ่สุดที่จับได้จากจังหวัดกาญจนบุรีหนักเพียง 520 กรัม ซึ่งในอดีตมีผู้เล่าว่าพบเห็นกบในธรรมชาติมีขนาดใหญ่ 1-2 กิโลกรัม จากข้อสันนิษฐานและความเป็นไปได้เกี่ยวกับขนาดของกบ

ภูเขาที่มีขนาดใหญ่ในอดีตนั้นอาจเป็นเพราะว่าอาศัยอยู่ในป่าลึก มีแหล่งที่อยู่อาศัยและอาหารอุดมสมบูรณ์ ไม่ถูกรบกวนจากการถูกล่าเป็นอาหาร ซึ่งแตกต่างไปจากปัจจุบันมีการตัดไม้ทำลายป่า แหล่งที่อยู่อาศัย อาหารและสภาพแวดล้อมถูกทำลาย ทำให้ประชากรลดลง ประกอบกับถูกจับไปเป็นอาหารเป็นจำนวนมาก จึงทำให้อัตราการเจริญเติบโตของกบภูเขาและประชากรกบภูเขามีขนาดเล็กลง

2. การอยู่รอดและการปรับตัวของกบภูเขาในบ่อเลี้ยง กบภูเขาสามารถอยู่รอดได้ดีในสภาพพื้นที่แบบนี้ เชื่องลง และไม่ค่อยตื่นตกใจง่าย บางครั้งจะออกมาหาอาหารกินในเวลากลางวัน จากผลแสดงให้เห็นว่ากบภูเขาที่อยู่ในบ่อเลี้ยงสามารถทำให้เชื่องลงได้

3. การผสมพันธุ์ในบ่อเลี้ยง ผลปรากฏว่ามีความเป็นไปได้สูง เพราะกบภูเขาออกมาผสมพันธุ์ถึง 4 ครั้ง ในระยะเวลา 6 เดือน และครั้งสุดท้ายมีการผสมพันธุ์ในเวลากลางวัน โดยเริ่มการร้องเรียกคู่ตั้งแต่เวลาประมาณ 9.00 น. และจับคู่ผสมพันธุ์กันและเสร็จสิ้นในเวลาประมาณ 15.00 น. ซึ่งในขณะที่กบผสมพันธุ์ผู้วิจัยได้เฝ้าสังเกตดูและทำการบันทึกภาพโดยที่กบภูเขาทั้งตัวผู้และตัวเมียก็ไม่แสดงอาการตื่นตกใจ และผสมพันธุ์กันต่อไปจนเสร็จสิ้นกินเวลาประมาณ 6 ชั่วโมง

4. ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าข้อมูลบางอย่างยังไม่สามารถวิเคราะห์ผลในทางสถิติได้ แต่ก็เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยเป็นอย่างยิ่งที่ทำให้สามารถบันทึกผลพฤติกรรมต่าง ๆ ของกบภูเขาไว้ได้ ซึ่งลักษณะทางพฤติกรรมเหล่านี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญเป็นอย่างยิ่งในการที่จะนำไปใช้ประกอบการศึกษาเพื่อหาวิธีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงกบภูเขาและการขยายพันธุ์ให้มีความเป็นไปได้สูง ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในแง่การอนุรักษ์พันธุ์กบภูเขาให้คงอยู่ตลอดไป

ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักกบภูเขาพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ที่จับมาจากจังหวัดกาญจนบุรี

(พฤศจิกายน 2531)

ตัวที่	น.น./กรัม	ตัวที่	น.น./กรัม	ตัวที่	น.น./กรัม	ตัวที่	น.น./กรัม
1	220	15	175 (ส)	29	35	43	*320
2	200	16	75 (ส)	30	135	44	240
3	140	17	140	31	175	45	*520
4	245	18	*410 (ส)	32	110	46	230
5	*355	19	150	33	55	47	165
6	170	20	250	34	95	48	230
7	240	21	225	35	125	49	250
8	105	22	80 (ส)	36	95	50	235
9	175	23	110 (ส)	37	95	51	235
10	125	24	120 (ส)	38	75	52	285
11	135	25	135 (ส)	39	115	53	255
12	135	26	205 (ส)	40	*320	54	180
13	100	27	80 (ส)	41	*320	55	245
14	145 (ส)	28	70 (ส)	42	*320	56	215
N = 56 X ± SD = 185.54 ± 94.19							

หมายเหตุ (ส) มีเส้นสีขาวพาดกลางหลังตั้งแต่หัวถึงก้น

* กบมีน้ำหนักมากกว่า 300 กรัม (ประมาณ 3 ตัว/กก.)

ตารางที่ 2 การผสมพันธุ์ของกบภูเขาที่นำมาเลี้ยงในบ่อ และการเจริญของเอมบริโอ

ครั้งที่	วันที่ผสมพันธุ์และวางไข่	จำนวนหลุม	การเจริญของเอมบริโอ	สาเหตุและการแก้ไข
1	ธันวาคม 2531	2	ไม่เจริญ	เนื่องจากน้ำขุ่นมีตะกอน พบตะกอนจับที่เยลลี่หุ้มไข่ ทำให้ไข่ไม่เจริญ
2	มกราคม 2532	1	ไม่เจริญ	
3	มีนาคม 2532	1	ไม่เจริญ	
4	พฤษภาคม 2532	1	เจริญ	มีการเปลี่ยนแปลงระบบการหมุนเวียนของน้ำ โดยทำการกรองน้ำก่อนผ่านลงบ่อเลี้ยงด้วยวิธีธรรมชาติ ทำให้น้ำใสไม่มีตะกอน

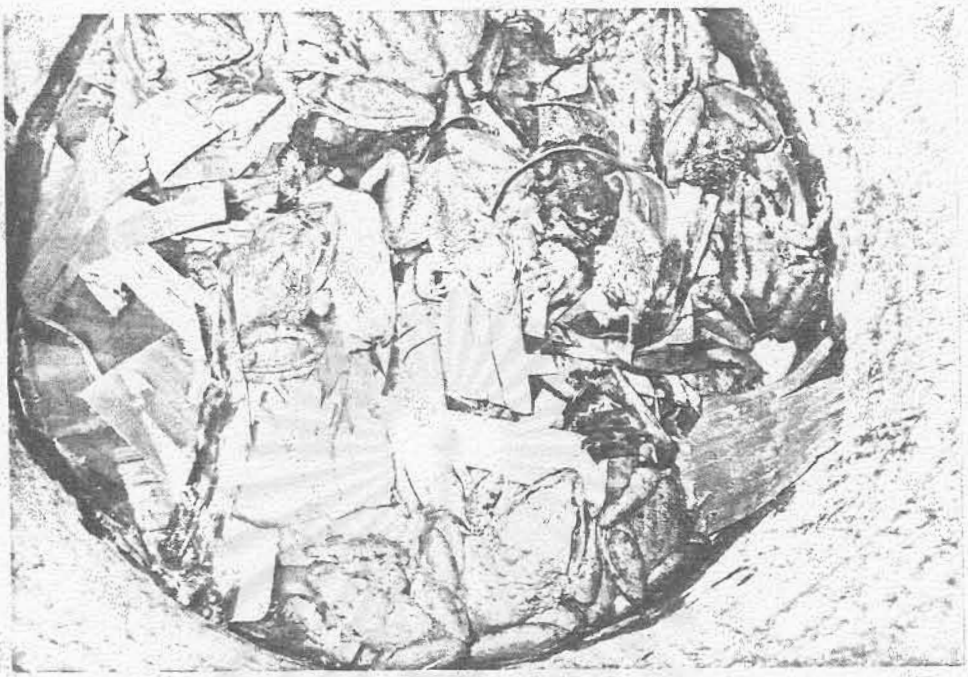
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

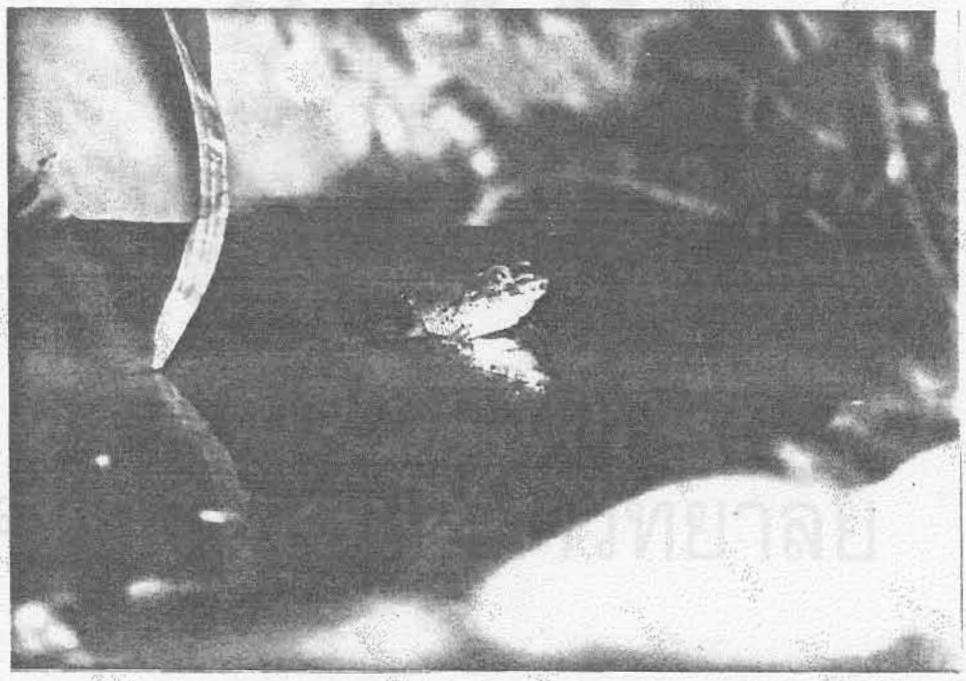
ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของลูกอ๊อดที่เลี้ยงในอ่างเลี้ยงปลา โดยให้อาหารปลาบด และลูกอ๊อดที่เจริญตามธรรมชาติในบ่อเลี้ยง

#	อายุ 2 สัปดาห์ (ความยาวเป็น ซม.)		อายุ 3 สัปดาห์ (ความยาวเป็น ซม.)	
	อ่างเลี้ยง	ในบ่อเลี้ยงธรรมชาติ	อ่างเลี้ยง	ในบ่อเลี้ยงธรรมชาติ
1	1.06	2.01	2.01	2.02
2	2.00	2.00	2.00	2.03
3	1.05	1.09	2.00	2.01
4	1.07	1.09	1.08	2.02
5	1.07	2.01	2.02	2.02
6	2.00	2.01	2.01	2.01
7	1.06	2.01	2.01	2.01
8	1.08	1.09	2.00	2.03
9	1.07	2.00	2.02	2.03
10	1.06	1.08	1.09	2.01
11	1.12	2.01	2.01	2.02
12	1.05	1.09	2.10	2.10
13	1.07	1.08	1.08	2.12
14	1.08	2.00	1.10	2.02
15	1.20	2.01	2.10	2.03
16	1.07	2.01	2.00	2.01
17	1.06	1.10	2.10	2.02
18	2.00	1.20	2.00	2.02
19	1.05	1.05	2.01	2.03
20	1.07	1.08	1.08	2.02
X±SD	1.21±0.33	1.55±0.45	1.79±0.41	2.03±0.03

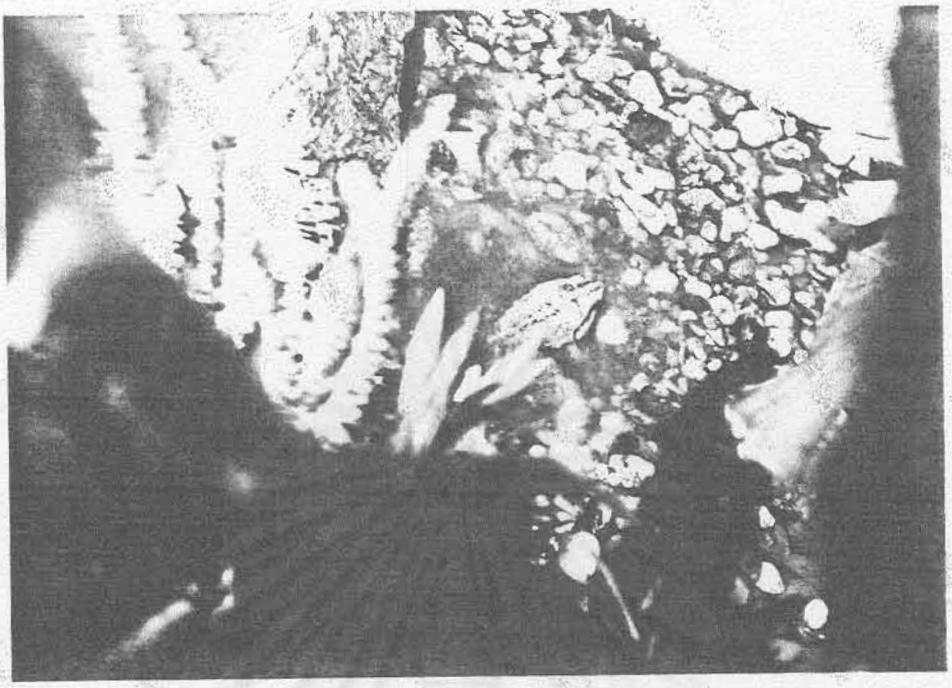
I 21253870 058200



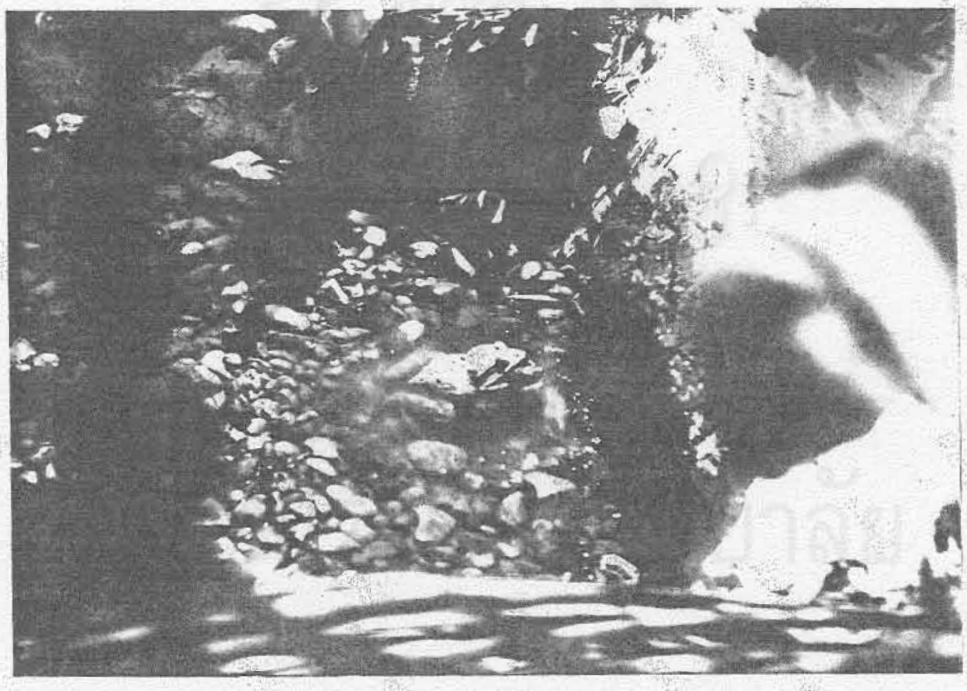
รูปที่ 1 พันธุ์กบภูเขาที่นำมาจากจังหวัดกาญจนบุรี



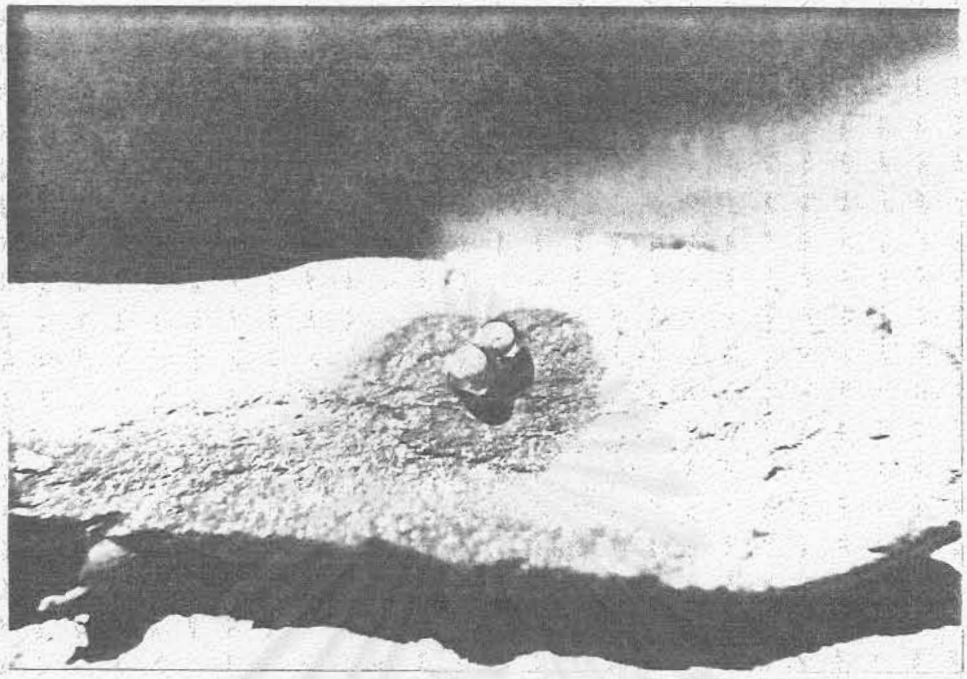
รูปที่ 2 กบภูเขาที่นำมาเลี้ยงในบ่อเลี้ยงศูนย์ศึกษา
การพัฒนาห้วยทรายฯ อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี



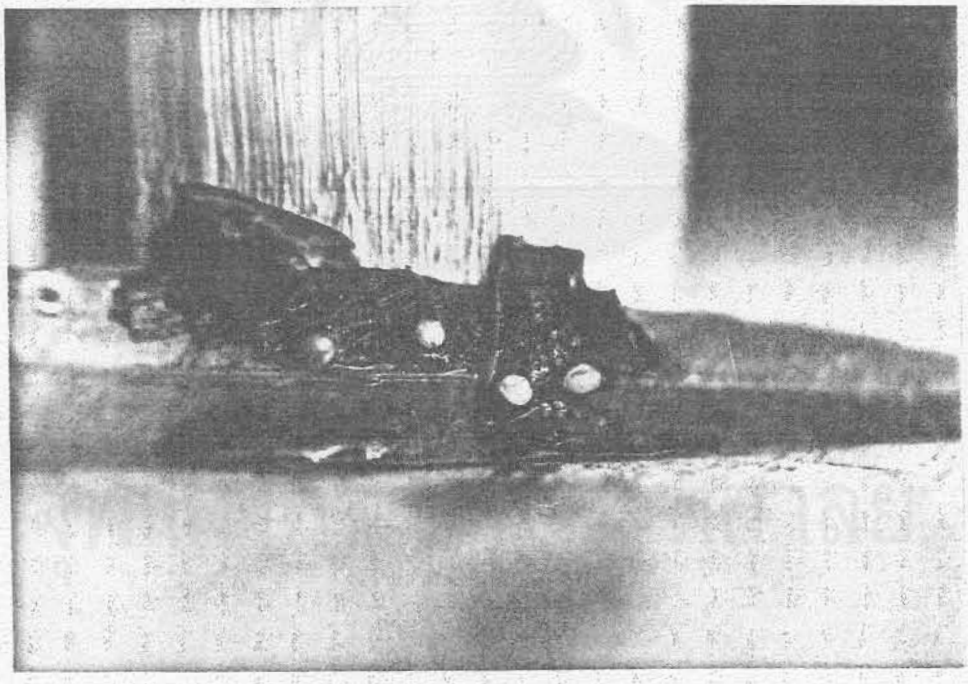
รูปที่ 3 กบภูเขาตัวผู้ กำลังเตรียมแหล่งผสมพันธุ์



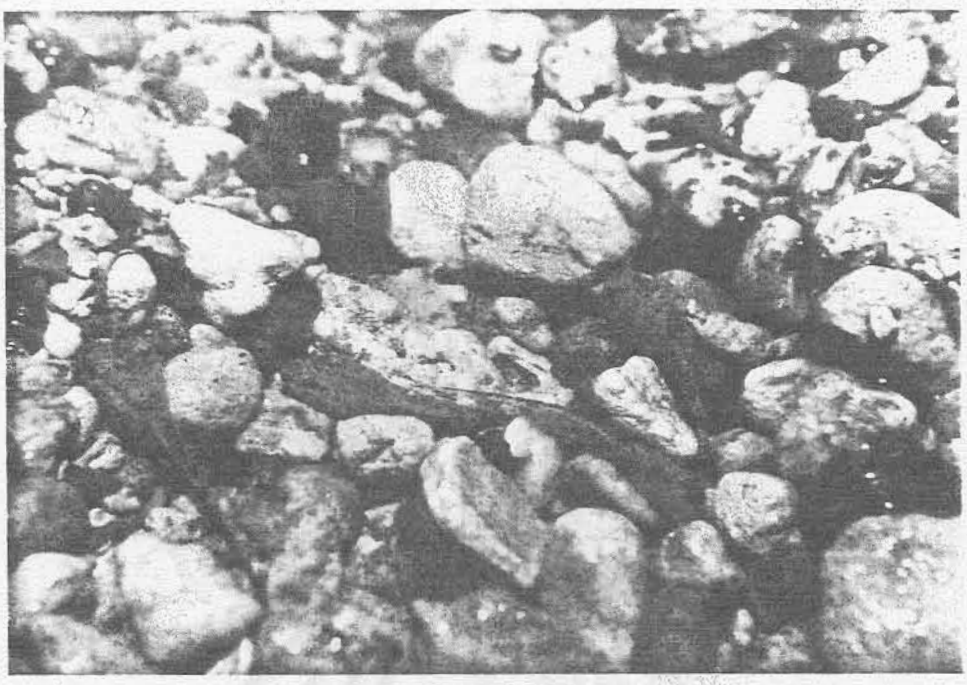
รูปที่ 4 กบภูเขากำลังจับคู่ผสมพันธุ์



รูปที่ 5 ลักษณะไข่กบภูเขา



รูปที่ 6 ไข่กบภูเขาที่ไม่เจริญเป็นลูกอ๊อด



รูปที่ 7 ลูกอ๊อดกบภูเขาระยะ Limb bud stage

รูปที่ 8 ลูกอ๊อดกบภูเขาระยะ Premetamorphic stage

เอกสารอ้างอิง

1. Taylor, Edward H. 1962. The Amphibian Fauna of Thailand. University of Kansas Science Bulletin Vol. LXIII No. 8 pp. 256-599.

2. อดิศักดิ์ ลิขสิทธิศุภการ 2528 กบทูด กองอนุรักษ์ กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เอกสารโรเนียว 4 หน้า

3. ผุสตี ปริยานนท์ และวิโรจน์ ดาวฤกษ์ 2529 การศึกษานิเวศวิทยาของกบภูเขาเพื่อเป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุ์ รายงานวิจัยการสัมมนาเรื่องสัตว์ป่าเมืองไทย Vol. 7 หน้า 6 (1-9)

4. กัมพล อิศรางกูร ณ อยุธยา นงเยาว์ จันทร์ผ่อง ธีรวรรณ นุตประพันธ์ และผุสตี ปริยานนท์ 2530 การศึกษาทางสันฐานวิทยาและกายวิภาคของกบภูเขา รายงานวิจัยการสัมมนาเรื่องสัตว์ป่าเมืองไทย Vol 8 : หน้า 17 (1-10)

5. ธีรวรรณ นุตประพันธ์ กัมพล อิศรางกูร นงเยาว์ จันทร์ผ่อง และผุสตี ปริยานนท์ 2530 การเจริญพันธุ์ของกบภูเขา รายงานวิจัยการสัมมนาเรื่องสัตว์ป่าเมืองไทย Vol 8 : หน้า ฉ (1-9)

6. นิวัต เรืองพานิช 2528 การอนุรักษ์ทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 268 หน้า

บทที่ 4

การวิเคราะห์โครโมโซมของกบภูเขา

(Rana blythii Boulenger)

บทคัดย่อ

การศึกษาโครโมโซมของการแบ่งเซลล์ของกบภูเขา ทั้งแบบไมโตซีส และไมโอซีสด้วยการย้อมสีแสดง band ต่าง ๆ พบว่า กบภูเขามีโครโมโซมจำนวน 24 แท่ง จัดได้ 12 คู่ คู่ที่ 1, 5, 9 และ 11 เป็นแบบ Metacentric คู่ที่ 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10 และ 12 เป็นแบบ Submetacentric มี secondary constriction อยู่ที่โครโมโซมคู่ที่ 9 Constitutive heterochromatin คือ บริเวณที่ติดสีเข้ม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนำ

การคัดเลือกและการปรับปรุงพันธุ์สิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ให้ได้ผลดีขึ้นตามความต้องการนั้น จำเป็นจะต้องอาศัยเอาความรู้พื้นฐานเบื้องต้นในการศึกษาทางการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับ DNA ยีน และโครโมโซมเข้ามาร่วมด้วย จำนวนโครโมโซม เป็นลักษณะทางพันธุกรรมอย่างหนึ่งที่ทำหน้าที่กำหนดลักษณะต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นไว้ นอกจากจะทำหน้าที่กำหนดชนิดแล้ว จำนวนโครโมโซมยังมีผลต่อเนื่องไปถึงกระบวนการสืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นในการที่จะสืบทอดและดำรงเผ่าพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นให้คงอยู่ต่อไปได้ ดังนั้นจึงมีผู้ที่ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมกันมาเป็นเวลาช้านานแล้ว

ได้มีผู้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตหลายชนิดมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1896 (1) เช่น การศึกษาจำนวนโครโมโซมในกลุ่มของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (2) การศึกษาจำนวนโครโมโซมในกลุ่มของสัตว์ชนิดต่าง ๆ (3) ในสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำก็ได้มีผู้ทำการศึกษากันเป็นจำนวนมาก ได้แก่ กลุ่มของอนูแรนที่อยู่ในทวีปอเมริกาและยุโรป (4 และ 5) และมีการศึกษาจำนวนโครโมโซมกลุ่มของอนูแรนชนิดเดียวกันในญี่ปุ่น เกาหลี และไต้หวัน (6) สำหรับในประเทศไทยได้มีผู้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมในกบนา (Rana tigerina) (7) คางคก (Bufo melanotictus Schneider) อึ่งอ่าง (Microhyla ornata Dumeril Bibron) และเขียดบัว (R. limnocharis limnocharis Gravenhorst) (8) นอกจากจะมีผู้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมของสัตว์ในกลุ่มอนูแรนแต่ละชนิดแล้ว ยังมีผู้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมในกลุ่มอนูแรนที่ทำการผสมข้ามพันธุ์ระหว่าง R. nigromaculata กับ R. plancyi chosenica (9) ศึกษาจำนวนโครโมโซมที่ผสมข้ามพันธุ์ระหว่างกลุ่มคางคกจากญี่ปุ่น ยุโรป และอเมริกา (10) และศึกษาจำนวนโครโมโซมที่ผสมข้ามพันธุ์ระหว่าง R. nigromaculata กับ R. brevipoda (11) เหล่านี้เป็นต้น สำหรับกบภูเขา (R. blythii Boulenger) เป็นสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำที่เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่พบอยู่ในประเทศไทยและแถบมาเลเซีย ยังไม่มีผู้ใดได้ทำการศึกษาและวิเคราะห์จำนวนโครโมโซมมาก่อน ดังนั้นความมุ่งหมายของการศึกษาในครั้งนี้

จึงทำขึ้นเพื่อวิเคราะห์ลักษณะและจำนวนโครโมโซมของกบภูเขาซึ่งเป็นลักษณะทางพันธุกรรมไว้เป็นข้อมูลเบื้องต้น เพื่อนำไปประกอบการศึกษาทางชีววิทยาในการที่จะพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์กบภูเขาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการที่จะอนุรักษ์และรักษาพันธุ์กบภูเขาให้คงอยู่ตลอดไปรวมทั้งเพื่อประโยชน์ในการที่อาจจะนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์หรือพัฒนาพันธุ์ให้ดีขึ้นต่อไปในอนาคตด้วย

<u>วัสดุและวิธีการ</u>

การวิเคราะห์ครั้งนี้ทำการศึกษาจากโครโมโซมของกบภูเขาโตเต็มวัยเพศผู้ จำนวน 12 ตัว เพศเมียจำนวน 15 ตัว เนื้อเยื่อที่ใช้คือ เลือด ไขกระดูก และม้าม โดยวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อ เพื่อให้ได้เซลล์ที่มีการแบ่งตัวระยะเมตาเฟส ตามวิธีของ Schmid (12) วิธีการแบ่งกลุ่มโครโมโซม ถือตามหลักของ Levan (13) และการย้อม C-band ทำตามวิธีของ Martin (14) โครโมโซมที่นำมาศึกษาเลือกจากเซลล์ที่มีการแบ่งตัวแบบไมโตซิสอย่างสมบูรณ์ อย่างน้อยตัวละ 10 เซลล์ การจับคู่โครโมโซมและจัด karyotype จัดโดยเทียบขนาดค่า centromeric index ตาม levan (13) และตำแหน่งของ constitutive heterochromatin ประกอบกัน

<u>ผลการศึกษา</u>

จากผลการศึกษาพบว่าโครโมโซมของกบภูเขามีจำนวน 12 คู่ หรือ 24 แท่ง โครโมโซมคู่ที่ 1, 5, 9 และ 11 เป็นแบบ Metacentric โครโมโซมคู่ที่ 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10 และ 12 เป็นแบบ Submetacentric และมี secondary constriction อยู่ที่โครโมโซมคู่ที่ 9 constitutive heterochromatin คือบริเวณที่ติดสีเข้ม ดังแสดงในภาพที่ 2 สำหรับในกบภูเขานี้ไม่สามารถจะแยกโครโมโซมเพศได้

รูปที่ 1 โครโมโซมย้อมสี Giemse แสดงลักษณะทั่วไปของโครโมโซม คู่ที่ 9 เป็นคู่ที่มี secondary constriction

|————————| = 10 um.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 2 โครโมโซม ย้อมด้วยวิธี C-banding แสดงตำแหน่งของ heterochromatin ซึ่งเป็นบริเวณที่ติดสีเข้ม

|————————| = 10 um.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Wilson, E.B., 1986. The cell in Development and Inheritance. The Macmillan Company, New York.
2. Hsu, T.C., and K Benirschke (editors)., 1967-1970. An Atlass of Mammalian Chromosomes. Volumes 1 to 4. Springer-Verlag. New York Inc., New York.
3. Makino, S., 1951a. An Atlas of The Chromosome Numbers in Animals. Iowa State College Press, Ames, Iowa.
4. Schmid, M., 1987a. Chromosoma. 66 : 361-388.
5. Schmid, M., H.B. Geile and S. Sims. 1983. Chromosoma. 88 : 69-82.
6. Nishioka, M. et al. 1987. Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol., Hiroshima Univ. 9 : 165-212.
7. สุดสนอง ผาตินาวิน และ ผุสตี ปรียานนท์ (2531) การวิเคราะห์โครโมโซมของกบนา (Rana tigerina) การประชุมวิชาการเรื่องวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 14 หน้า 434-435.
8. นงลักษณ์ นาคเกษม 2519 การศึกษาการเจริญเติบโตและคารีโอไทพ์ของกบอึ่งอ่าง วิทยานิพนธ์ แผนกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9. Nishioka, M., 1983. Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol., Hiroshima Univ. 6 : 81-140.
10. Kawamura, T., M. Nishioka and H. Ueda., 1980. Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol. Hiroshima Univ. 4 : 1-125.
11. Kawamura, T., and M. Nishioka., 1983. Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol. Hiroshima Univ. 6 : 1-45.
12. Schmid, M., 1978. Chromosoma.

13. Levan, A., K. Fredga., and A.A. Sandberg., 1964. Hereditas.
52 : 201-220.

14. Martin, P.K. and J. D. Rowley., 1983. Stain Technol.
58 : 7-12.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

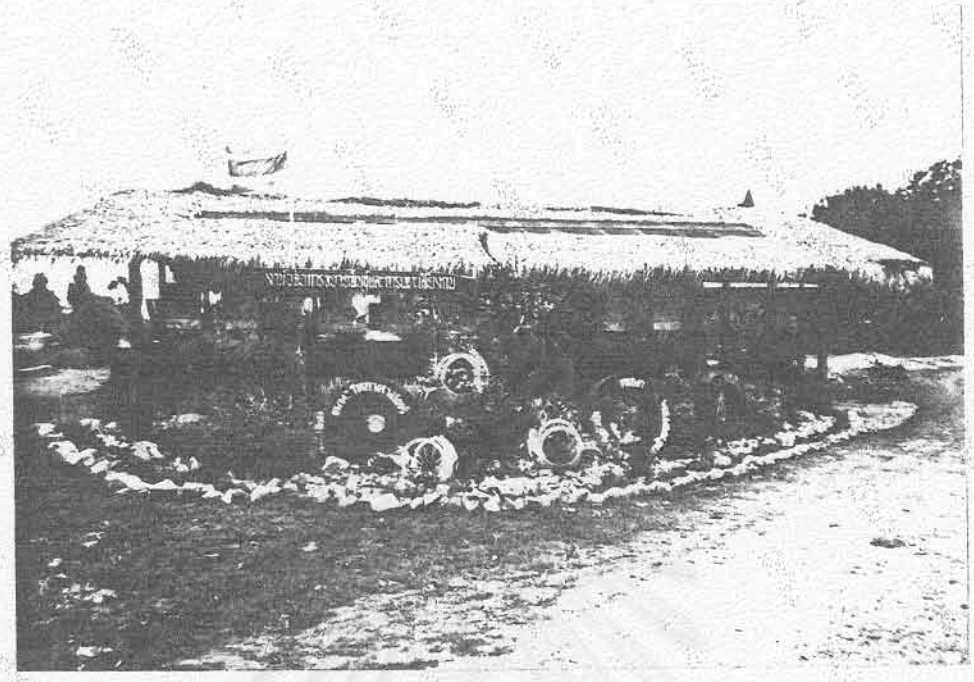
ภาคผนวก (ภาพประกอบ)

รูปที่ 1-6 งานวิจัยการขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงกบ
ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยทรายอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
อ. ชะอำ จ. เพชรบุรี

รูปที่ 7-12 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี
เสด็จทอดพระเนตรโครงการวิจัย การขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงกบฯ
วันที่ 17 มิถุนายน พ.ศ. 2533

รูปที่ 13-18 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวและสมเด็จพระนางเจ้าพระบรมราชินีนาถ
เสด็จทอดพระเนตรโครงการวิจัยการขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงกบ
วันที่ 26 มิถุนายน พ.ศ. 2533

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

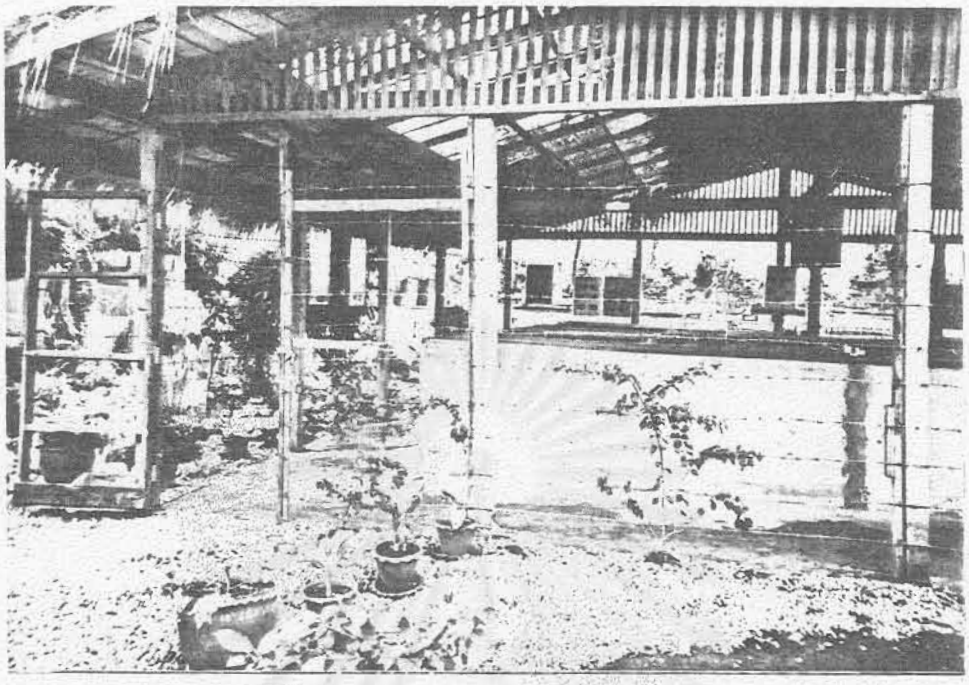


รูปที่ 1 บ่อเลี้ยงกบบูลฟร็อก

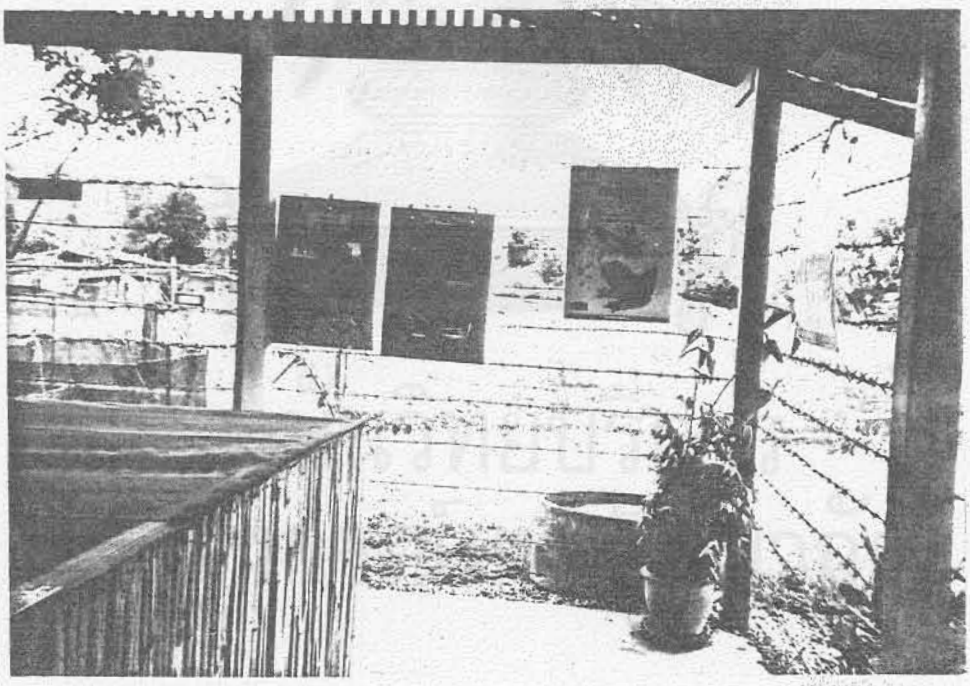
งานวิจัยการขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงกบฯ

รูปที่ 2 บริเวณบ่อเลี้ยง โครงการวิจัยฯ

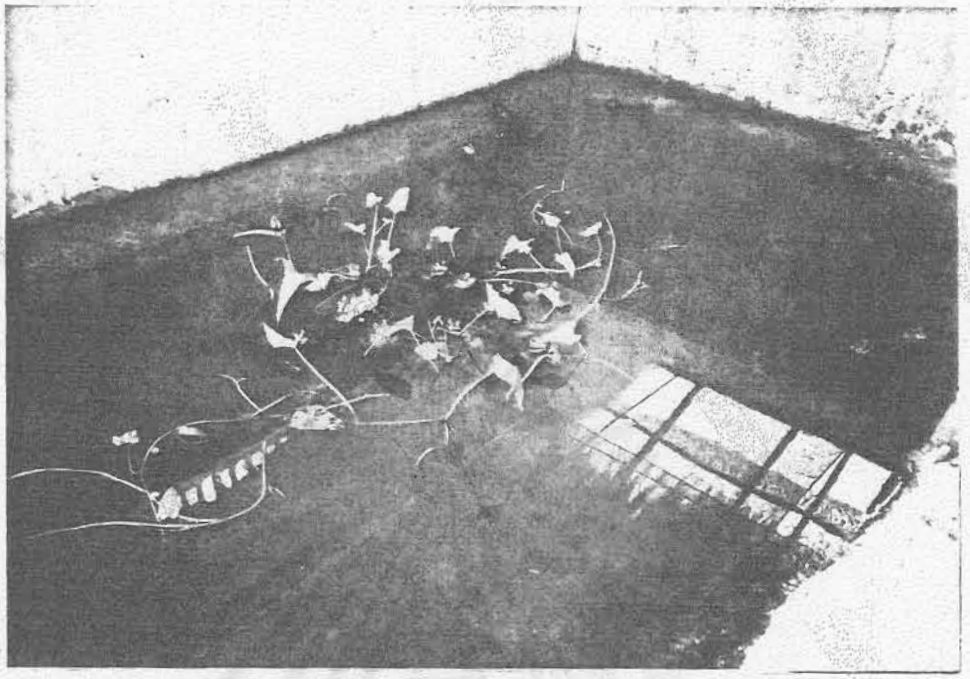
ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยทรายฯ อ. ชะอำ จ. เพชรบุรี



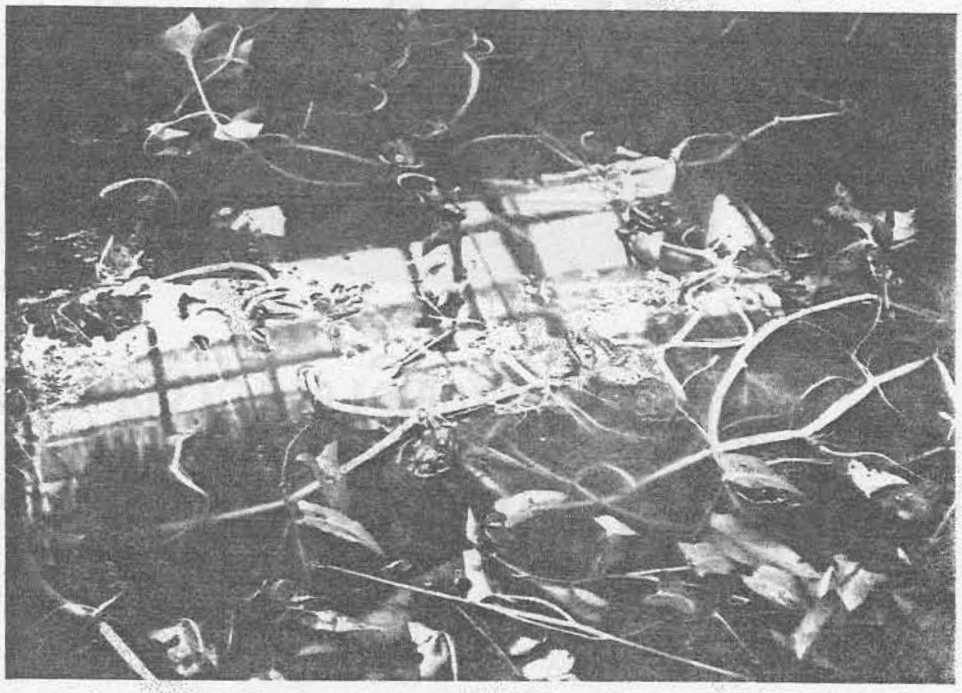
รูปที่ 3 บ่อเลี้ยงพ่อพันธุ์แม่พันธุ์กบบูลฟร็อก



รูปที่ 4 บ่อเลี้ยงพ่อพันธุ์แม่พันธุ์กบนา
และกบบูลฟร็อก



รูปที่ 5 ลักษณะภายในบ่อเลี้ยงแบบถาวร



รูปที่ 6 กบพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ บูลฟร็อก

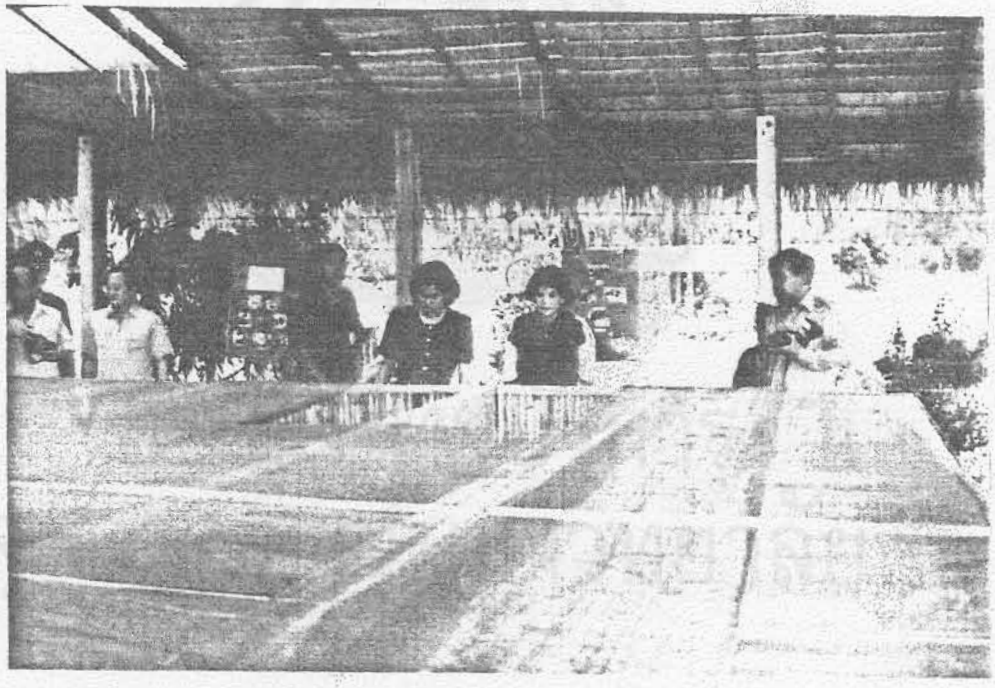
(Rana catesbeiana)

รูปที่ 7 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ เสด็จทอดพระเนตร
โครงการวิจัย เมื่อวันที่ 17 มิถุนายน 2533

รูปที่ 8 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ
เสด็จทอดพระเนตรกบภูเขา

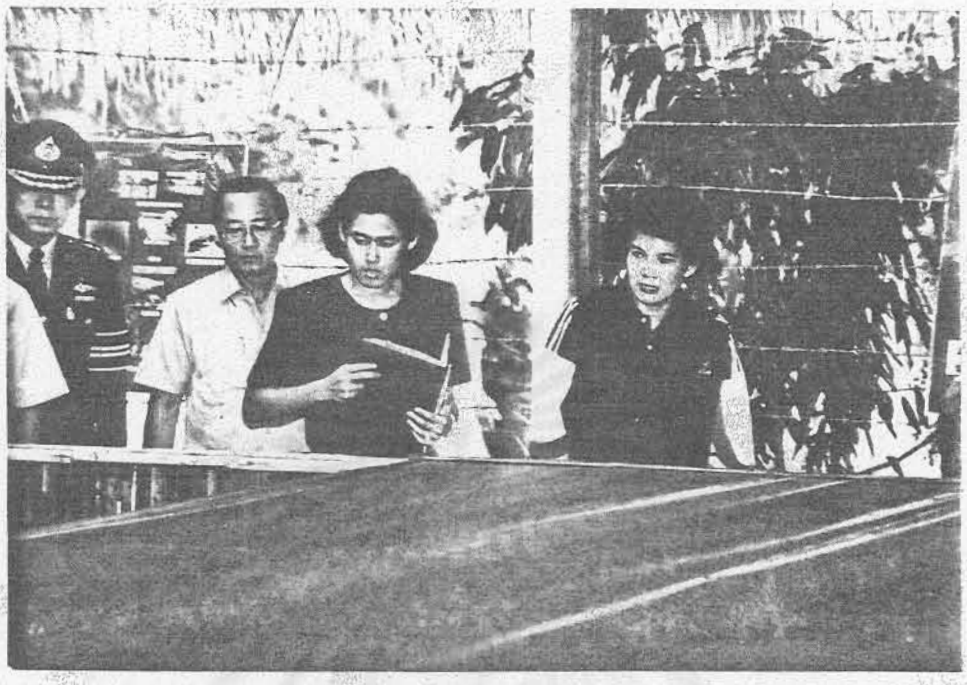
รูปที่ 9 เสด็จทอดพระเนตรพ่อพันธุ์แม่พันธุ์กบบูลฟร็อก

(17 มิถุนายน 2533)



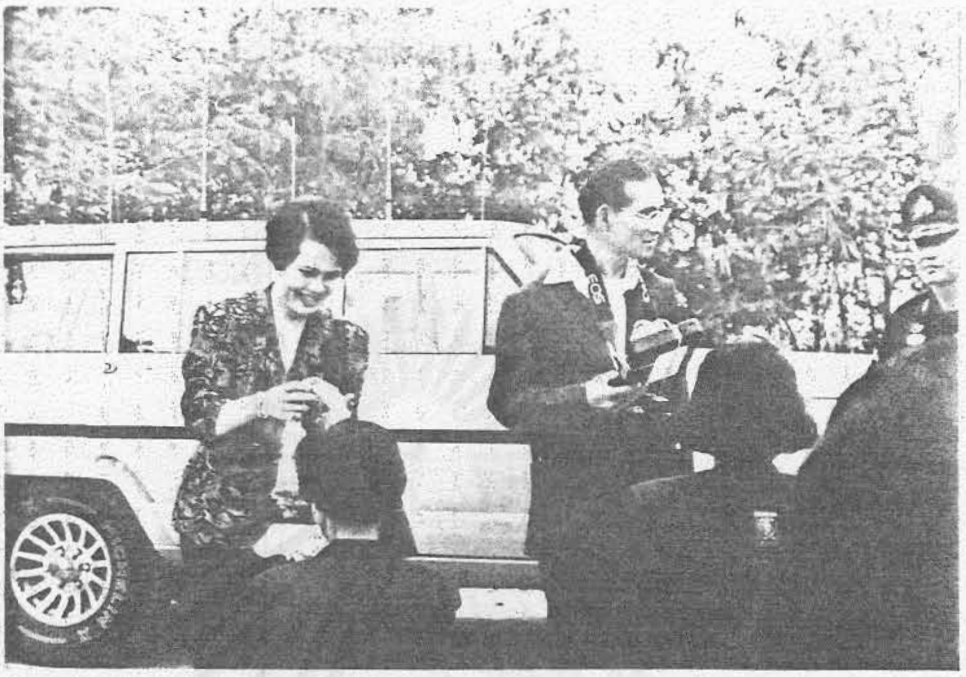
รูปที่ 10 ภายในบริเวณบ่อพ่อพันธุ์แม่พันธุ์กบบูลฟร็อก

(17 มิถุนายน 2533)



รูปที่ 11 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี
เสด็จทอดพระเนตรโครงการวิจัยฯ

รูปที่ 12 เสด็จทอดพระเนตรบ่อกบและกบภูเขา

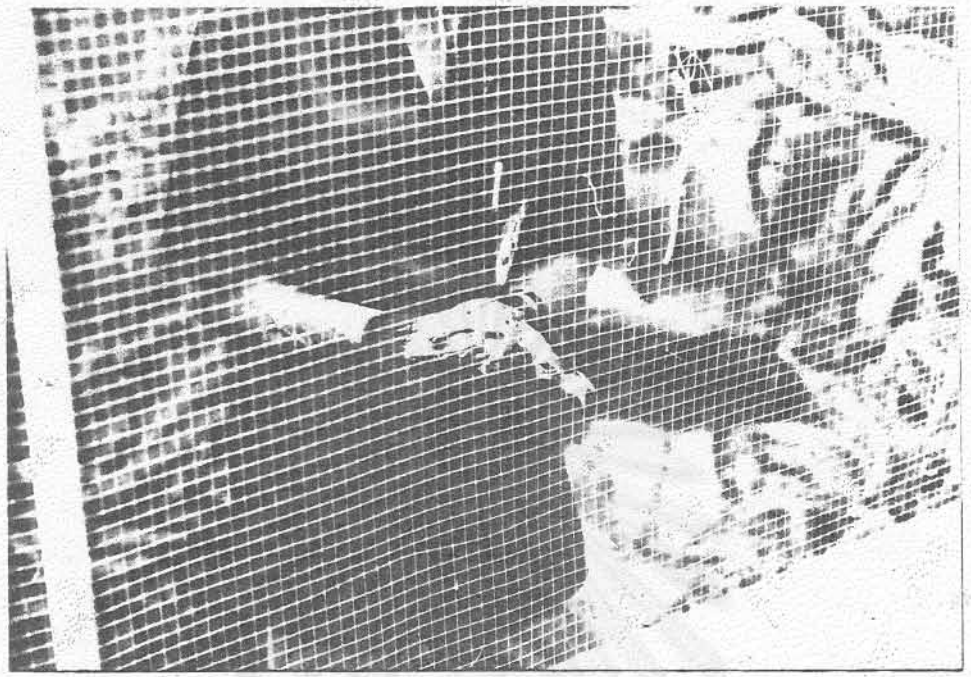


รูปที่ 13 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และสมเด็จพระนางเจ้าพระบรมราชินีนาถ เสด็จทอดพระเนตรโครงการวิจัยฯ เมื่อ 26 มิถุนายน 2533

รูปที่ 14 เสด็จทอดพระเนตรกบภูเขา และบ่อเลี้ยงกบภูเขา (26 มิถุนายน 2533)

รูปที่ 15 พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เสด็จทอดพระเนตร
กบภูเขาที่นำมาเลี้ยงในบ่อ (26 มิถุนายน 2533)

รูปที่ 16 สมเด็จพระนางเจ้าพระบรมราชินีนาถ เสด็จทอดพระเนตร
กบภูเขา (26 มิถุนายน 2533)



รูปที่ 17 กบภูเขา (Rana blythii Boulenger)

รูปที่ 18 เสด็จทอดพระเนตรโครงการวิจัยการขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงกบ

26 มิถุนายน 2533