

ค่าทางโลหิตวิทยาบางประการและพยาธิในเลือดของกบโป่งและเขียดแลวที่เพาะเลี้ยงใน สถานีประมงน้ำจืด จังหวัดแม่ฮ่องสอน

The Hematological Values and Blood Parasites of Giant Asian River Frog (*Limnonectes blythii* Boulenger, 1920) and Large-Headed Frog (*L. kuhlii* Tschudi, 1838) in Inland Fisheries Station Maehongson Province.

ศิริพรรณ พลเสน,¹ นวลอนงค์ นาคคง,^{2*} ชงชัย บุญสอน,³ วรพล เองวานิช⁴

Siriphan Ponsen,¹ Nual-anong Narkkong,² Thongchai Boonsorn,³ Warapol Aengwanich⁴

บทคัดย่อ

การศึกษาค่าทางโลหิตวิทยาบางประการในกบโป่ง (*Limnonectes kuhlii* Tschudi, 1838) และเขียดแลว (*Limnonectes blythii* Boulenger, 1920) ระหว่าง พฤษภาคม - กันยายน 2557 ณ สถานีประมงน้ำจืดแม่ฮ่องสอน อำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยการเก็บเจาะเลือดจากหัวใจนำมาทำสไลด์สเมียร์ย้อมด้วยสีไรท์จีเมซ่า เพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่าสามารถจำแนกจำแนกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา ทั้งกบโป่งและเขียดแลวมีเซลล์เม็ดเลือดขาว 5 ชนิดได้แก่ ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ เฮทเทอโรฟิล อีโอสิโนฟิล และเบโซฟิล เขียดแลวที่เลี้ยงในสภาวะต่างกันคือในบ่อเล็กและกรงใหญ่ มีค่าเฉลี่ยของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ อีโอสิโนฟิล และเบโซฟิล แตกต่างกัน เขียดแลวที่เลี้ยงรวมในกรงใหญ่ พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดชนิดเบโซฟิลเพิ่มมากขึ้นทั้งสองเพศ อาจเป็นผลจากความเครียดและการติดเชื้อของตัวสัตว์ที่นำมาเลี้ยงรวมจำนวนมากๆ กันเป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้ยังพบเซลล์พยาธิในเซลล์เม็ดเลือดและในน้ำเลือดทั้งในกบโป่งและเขียดแลว โดยในกบโป่งพบพยาธิ 5 ชนิด ได้แก่ *Microfilariae* sp., *Trypanosoma rotatium*, *Hepatozoon* sp., *Plasmodium* sp. และ *Haemoproteus* sp. ส่วนในเขียดแลวพบพยาธิ 4 ชนิดได้แก่ *Microfilariae* sp., *T. rotatium*, *Haemogregarina* sp. และ *Lankestrella* sp

คำสำคัญ: เซลล์เม็ดเลือดขาว กบโป่ง เขียดแลว พยาธิในเลือด

Abstract

Some hematological value of *Limnonectes kuhlii* Tschudi, 1838 and *Limnonectes blythii* Boulenger, 1920 were studied during May and September 2014 at Inland Fisheries Station Mae Hong Son, Muang district, Mae Hong Son province. Blood sample were collected from heart and prepared for blood smear and stained with Wright-Giemsa. Morphology of leukocyte both *L. kuhlii* and *L. blythii* could clearly classify as lymphocyte, monocyte, heterophil, eosinophil and basophil. Percentage of white blood cell count in *L. blythii* that cultivated in breeding pond and frog farmhouse were different in number of Lymphocyte, eosinophil and basophil, it was also found that percentage of basophil from *L. blythii* in frog farmhouse were very high, it may be due to the stress and many infected animals inhabited for a long time. Moreover, we found 5 blood parasites in erythrocyte and blood plasma of *L. kuhlii* i.e. *Microfilariae* sp., *Trypanosoma rotatium*, *Hepatozoon* sp., *Plasmodium* sp. and *Haemoproteus* sp. While *Microfilariae* spp., *T. rotatium*, *Haemogregarina* spp. and *Lankestrella* spp. were found in *L. blythii*.

Keywords: White blood cell, *Limnonectes blythii* Boulenger, 1920, *Limnonectes kuhlii* Tschudi, 1838, blood parasites

^{1,2,3} นักวิจัย, ⁴อาจารย์, หน่วยปฏิบัติการวิจัยภาวะเครียดและภาวะเครียดออกซิเดชันทางสัตว์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44000

^{1,2,3} Researcher, ⁴Lecturer, Stress and Oxidative Stress in Animal Research Unit. Mahasarakham University, Kantharawichai District, Mahasarakham 44000, Thailand.

บทนำ

กบโป่ง กบดอยหัวโต Large-Headed Frog (*Limnodynastes kuhlii* Ischudi, 1838) เป็นกบขนาดใหญ่ ตัวผู้มีขนาดใหญ่กว่าตัวเมีย ลำตัวมีสีน้ำตาลอมเขียวมะกอก ระหว่างตามีแถบสีดำพาด ขอบปากล่างมีจุดสีน้ำตาล ขามีลายพาดสีเข้ม คางและท้องสีเหลือง ด้านบนของแข้งเต็มไปด้วยตุ่มขนาดใหญ่หนาแน่นมากบ้างน้อยบ้าง กบโป่งมีการแพร่กระจายตั้งแต่ตอนใต้ของจีน (ยูนนาน กวางสี) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย เมียนมาร์ ไทย ลาว เวียดนาม มาเลเซีย เบอร์เนียว อินโดนีเซีย พบได้ในที่สูง 200-1,800 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล ยังพบได้ทั่วไปในป่าดงดิบที่มีลำธารใสสะอาด พื้นเป็นกรวดทราย แต่ลดจำนวนลงเพราะการบุกรุกถางป่า¹ เขียดแลว, กบทูต, กบภูเขา Giant Asian River Frog (*Limnodynastes blythii* Boulenger, 1920) เป็นกบที่มีขนาดใหญ่ที่สุดของประเทศไทย และมีขนาดใหญ่เป็นลำดับสองของโลก มีหนังสีน้ำตาลอมแดง ด้านท้องมีสีขาว บริเวณสีข้างอาจมีลายหรือจุดสีดำหรือจุดสีน้ำตาล มีหัวค่อนข้างแหลม ตาโปน ปากกว้างภายในปากด้านหน้าชั้นล่างมีเขี้ยว 1 คู่ ลำตัวมีระยะ 2 คู่ คู่หน้าสั้น ขาหลังยาว บริเวณขาหน้าและขาหลังจะมีแถบดำพาดตามขวาง ตัวเต็มวัยมีลำตัวยาว 18 เซนติเมตรหนัก 0.5 กิโลกรัม ตัวใหญ่ที่สุดมีน้ำหนักถึง 3 กิโลกรัม พบได้ทั่วไปในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีชุกชุมในป่าของประเทศมาเลเซีย โดยจะพบเขียดแลวชอบอาศัยใกล้เขตชุมชนมากกว่าในป่าลึก มีการแพร่กระจายในเวียดนาม ลาว ไทย เมียนมาร์ มาเลเซีย สิงคโปร์ เกาหลีต่างๆ เช่น อินโดนีเซีย สุมาตรา กูเก็ด ลังการ์ ปีนัง พบได้ในที่สูงเหนือระดับน้ำทะเลถึง 1,200 เมตร ขึ้นไป กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ประกาศให้เขียดแลว เป็นสัตว์ป่าคุ้มครองใกล้สูญพันธุ์ (Endangered)²

สถานีประมงจังหวัดแม่ฮ่องสอน ได้เพาะเลี้ยงกบโป่งและเขียดแลว เพื่อผลิตลูกกบปล่อยคืนสู่ธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง³ ทางสถานีได้จัดทำที่เลี้ยงเขียดแลวไว้ 2 แบบ คือ เลี้ยงในกรงขนาดใหญ่คลุมทั้งเพศผู้ เพศเมีย มีเขียดแลวในกรงประมาณ 200 ตัว นอกจากนี้ ได้ยังมีบ่อเลี้ยงขนาดเล็ก เพื่อแยกพ่อแม่พันธุ์เป็นคู่ หรือเป็นบ่อเตรียมการเคลื่อนย้ายสัตว์มีจำนวนกบในบ่อไม่เกิน 10 ตัว ผู้วิจัยทำการตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยาเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการสุขภาพสัตว์เพื่อกำหนดพารามิเตอร์ที่สามารถแยกแยะสัตว์ที่สุขภาพดีหรือป่วยออกจากกันได้

วิธีการดำเนินงานวิจัย

ผู้วิจัยได้สุ่มเก็บเขียดแลว จากกรงใหญ่ จำนวน 30 ตัว สุ่มเก็บจากบ่อเล็ก 32 ตัว เพื่อเจาะเลือดศึกษาค่าทางโลหิตวิทยา ส่วนกบโป่ง ทางสถานีแยกเลี้ยงในบ่อเล็กเป็นคู่เพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ จึงสุ่มเก็บตัวอย่างกบโป่งเป็นจำนวน 10 คู่ เลือดที่เจาะเก็บนำมาเสมียร์บนสไลด์ ย้อมด้วยสี Wright-Giemsa แล้วนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว 100 เม็ด นำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยเพื่อเปรียบเทียบและประเมินสุขภาพสัตว์ต่อไป

ผลการศึกษา

การจำแนกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาในกบโป่งและเขียดแลว สามารถจำแนกออกได้อย่างชัดเจน ทั้งโครงสร้างในระดับจุลทรรศน์ ทั้งกบโป่งและเขียดแลว อยู่ในสกุลเดียวกัน มีชนิดของเซลล์เม็ดเลือดเหมือนกัน และขนาดไม่แตกต่างกันมาก เซลล์เม็ดเลือดขาวมี 5 ชนิดคือ ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ เฮทโทฟิลล์ อีโอสิโนฟิล และเบโซฟิล เซลล์ที่ต่างกันมากที่สุดคือ เซลล์อีโอสิโนฟิล ซึ่งติดสีต่างกัน โดยเซลล์อีโอสิโนฟิลในกบโป่งมีแกรนูลติดสีแดงปนน้ำตาล ส่วนในเขียดแลวมีแกรนูลติดสีแดงถึงแดงปนม่วง โดยอาจพบแกรนูลได้ 2 ลักษณะในสัตว์ตัวกัน คือแบบทรงกลมและทรงรี

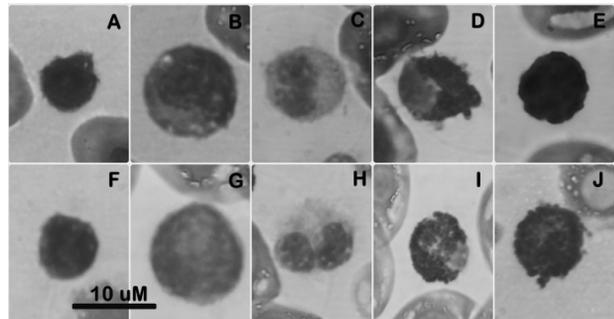


Figure 1 Micrograph of leukocyte in *L. kuhlii* (A-E) and *L. blythii* (F-J) including lymphocyte (A,F), monocyte (B,G), heterophil (C,H), eosinophil (D,I) and basophil (E,J) bar = 10 micron

พบเซลล์พยาธิในเซลล์เม็ดเลือดและในน้ำเลือดทั้งในกบโป่งและเขียดแลว (ภาพที่ 2) ในกบโป่งพบพยาธิ 5 ชนิดคือ *Microfilariae* sp., *Trypanosoma rotatum*, *Hepatozoon* sp., *Plasmodium* sp. และ *Haemoproteus* sp. โดยบางตัวที่ไม่ติดเชื้อพยาธิใดๆ เลย ในเขียดแลวพบพยาธิ 4 ชนิด ได้แก่ *Microfilariae* sp., *T. rotatum*, *Haemogregarina* sp. และ *Lankestrella* sp. ทุกตัวมีเซลล์พยาธิในเลือด

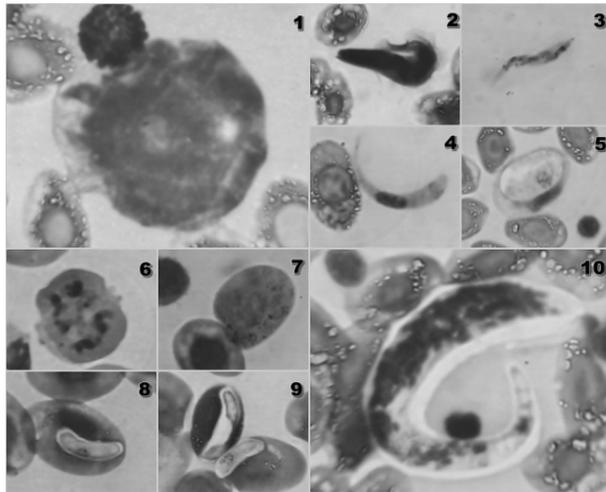


Figure 2 Micrograph of blood parasites in *L. kuhlii* and *L. blythii* including *Trypanosoma rotatium* (1,2), *Lankestrella* sp. (3), *Haemogregarina* sp. In free living form(4) and embed in erythrocyte (5), *Plasmodium* sp. (6), *Haemoproteus* sp. (7), *Hepatozoon* sp. (8,9) and *Microfilariae* sp. (10)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวในเลือดแล้วเป็นค่ารวมทั้งสองเพศ ที่เลี้ยงในสภาวะต่างกัน พบว่า ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในเซลล์เม็ดเลือดขาวของเขียดแล้วที่เลี้ยงรวมในกรงใหญ่ มีค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ลิมโฟไซต์และเซลล์อีโอซิโนฟิล ต่ำกว่าในเขียดแล้วที่แยกเลี้ยงในบ่อเล็ก และมีค่าเฉลี่ยของเซลล์เบโซฟิลล์สูงกว่าเขียดแล้วที่แยกเลี้ยงในบ่อเล็กอย่างมาก (Table 1)

Table 1 Percentage of leukocyte count from blood smear and blood parasites between *L. kuhlii* and *L. blythii*

Cell in blood smear	<i>L. kuhlii</i> in breeding pond (n=20)	<i>L. blythii</i> in breeding pond (n=32)	<i>L. blythii</i> in farmhouse (n=30)
Leukocyte (%)			
Lymphocyte	75.31±7.20	70.25±6.73	51.90±12.25
Monocyte	6.53±4.48	6.63±4.27	6.47±4.03
Heterophil	7.84±5.07	4.63±2.23	5.56±5.49
Eosinophil	2.86±1.63	6.34±4.73	3.30±2.34
Basophil	8.36±3.91	12.03±4.17	32.77±10.19
Blood parasites			
<i>Microfilariae</i> sp.	4	31	24
<i>Trypanosoma rotatium</i>	5	26	28
<i>Hepatozoon</i> sp.	8	-	-
<i>Plasmodium</i> sp.	4	-	-
<i>Haemoproteus</i> sp.	1	-	-
<i>Haemogregarina</i> sp.	-	15	10
<i>Lankestrella</i> sp.	-	28	22



สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

เมื่อพิจารณาผลการตรวจพบเซลล์พยาธิในน้ำเลือดและเซลล์เม็ดเลือดที่กระจายในกบโป่งและเขียดแล้ว พบว่ากบโป่งมีจำนวนชนิดของพยาธิมากกว่าเขียดแล้ว แต่มีหลายตัวที่ไม่พบเซลล์พยาธิเลย ส่วนเขียดแล้วมักจะพบจำนวนชนิดของพยาธิน้อยกว่า แต่เขียดแล้วพบเซลล์พยาธิในเลือดได้ทุกตัว สอดคล้องกับรายงานของ Chutmongkonkul M (2006) โดยพบว่า ไม่มีตัวใดที่ไม่ติดเชื้อพยาธิเลย บางตัวพบว่ามีเซลล์พยาธิครบทั้ง 4 ชนิดด้วย โดยมี *Microfilariae* sp. และ *T. rotatium* เป็นชนิดของพยาธิที่ติดร่วมกัน คาดว่า พยาธิเหล่านี้ได้รับมาจากพฤติกรรมการกิน เนื่องจากกบโป่งและเขียดแล้วต้องกินแมลงสดๆ เป็นอาหาร โดยในแมลงมีเซลล์พยาธิอยู่แล้ว ทั้งนี้ ทางสถานีได้เปิดไฟในกรงไว้ตลอดคืน เพื่อล่อให้แมลงบินเข้ามาเป็นอาหารกบโป่งและเขียดแล้ว แมลงจึงเป็นพาหะนำพยาธิมาให้กบโป่งและเขียดแล้วโดยตรง

เมื่อศึกษาค่าเฉลี่ยจากการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นร้อยละ พบว่า กบโป่งทั้งหมด มีสุขภาพดี ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดไม่แตกต่างกันในระหว่างเพศผู้และเพศเมีย (ไม่ได้แสดงในตาราง)

เมื่อศึกษาค่าเฉลี่ยจากการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นร้อยละในเขียดแล้ว พบว่า เขียดแล้วที่เลี้ยงในสภาวะต่างกัน มีค่าเฉลี่ยของเซลล์เม็ดเลือดชนิดลิมโฟไซต์ อีโอสิโนฟิล และเบโซฟิล แตกต่างกันโดยมีความสอดคล้องกันทั้งสองเพศด้วย (ไม่ได้แสดงในตาราง) จากปริมาณเซลล์เม็ดเลือดชนิดเบโซฟิลที่พบเป็นจำนวนมากในเขียดแล้วที่เลี้ยงรวมในกรงใหญ่ อาจเป็นผลจากความเครียดและการติดเชื้อของตัวสัตว์ที่นำมาเลี้ยงรวมจำนวนมากๆ กันเป็นระยะเวลาสั้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความร่วมมือเป็นอย่างดียิ่งจากคณะผู้ร่วมวิจัยทุกคน ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยี และหน่วยบริการวิชาการด้านเครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ขอขอบคุณ ร้อยตรีถนอมศักดิ์ นันทะสมบัติ ข้าราชการบำนาญ สังกัดจังหวัดทหารบกเชียงราย ที่ช่วยติดต่อประสานงานและแนะนำสถานที่ในการทำการวิจัย ขอขอบคุณผู้อำนวยการและเจ้าหน้าที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดแม่ฮ่องสอนทุกคน ที่อำนวยความสะดวกและให้ความอนุเคราะห์สัตว์ทดลองและสถานที่ศึกษาตลอดจนอำนวยความสะดวกที่พักรับรอง ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่และงานสร้างสรรค์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม งบประมาณเงินรายได้ พ.ศ. 2557 ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. ไพบูลย์ รุ่งพิบูลโสภณัฐ. ชีวิตวิทยาบางประการของเขียดแล้ว. กรุงเทพฯ: เอกสารวิชาการฉบับที่ 15/2540. กองประมงน้ำจืด กรมประมง. 41 หน้า; 2540.
2. เอกพจน์ เจริญศิริวงศ์ธนา. การเพาะพันธุ์กบโป่งแม่ฮ่องสอน: เอกสารวิชาการฉบับที่ 53/2547 สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดแม่ฮ่องสอน กรมประมง. 22 หน้า; 2547.
3. Chutmongkonkul M, Khonsue W, Pariyanonth P. Blood parasites of six species of wild amphibians from Khun Mae Kuang forest area, Thailand. Proceedings of AZWMP 2006 Chulalongkorn Uni. Fac. of Vet. Sc., Bangkok, Thailand, Oct 26-29, 2006.