

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

การเพิ่มจำนวนประชากรมนุษย์ส่งผลให้มีความต้องการอาหารเพิ่มขึ้น มีการขยายอาณาเขตเพื่อสร้างที่อยู่อาศัยมากขึ้น รวมทั้งการใช้สารเคมีทางการเกษตร เช่น ยาฆ่าแมลง และสารเคมีอื่นๆ ปัจจุบันเหล่านี้ล้วนไปรบกวนวงจรชีวิตของสัตว์หลายชนิด หนึ่งในนั้นคือสัตว์ในอันดับอะนุรา โดยเฉพาะกบ ที่จัดเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพของระบบนิเวศ ซึ่งการใช้สารเคมีนั้นจะสามารถเป็นเหตุให้กบตายได้ทันที หรือมีการสะสมของสารพิษ รวมถึงส่งผลกระทบต่อกระบวนการเจริญเติบโตของลูกอ๊อด เช่น กบที่มีการตาบอด นิ้วด้วน หรือขาด้วน เป็นต้น ซึ่งปัจจัยต่างๆ ดังกล่าวล้วนส่งผลให้จำนวนกบในธรรมชาติลดลง เนื่องจากสัตว์เหล่านี้ผิวหนังบางและชุ่มชื้น จึงมีความสามารถในการดูดซับสารต่างๆ ได้ดี ดังนั้นหากในธรรมชาติมีการสะสมสารเคมีที่เป็นพิษ สัตว์เหล่านี้จะเป็นสัตว์กลุ่มแรกๆ ที่จะได้รับผลกระทบโดยตรง ด้วยเหตุนี้ “กบ” จึงได้ชื่อว่าเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (Bioindicator) รวมทั้งการจับกบมาจำหน่ายหรือประกอบอาหาร หรือแม้แต่การจับในระยะลูกอ๊อด ซึ่งการกระทำดังกล่าวเป็นการตัดวงจรชีวิต และหนทางการแพร่พันธุ์ของกบโดยสิ้นเชิง

นอกจากปัจจัยดังกล่าวข้างต้น ยังพบว่าการเกิดโรคในสัตว์กลุ่มนี้ นับได้ว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญมาก อีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้จำนวนกบลดลง หรือสูญพันธุ์ไปแล้วในบางชนิด โดยโรคที่มีการรายงานในสัตว์กลุ่มนี้ มีทั้งโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และปรสิต โดยอาการที่พบ คือ สัตว์จะไม่ค่อยกินอาหาร ผอม ตัวชืด เมื่อตรวจดูในลำไส้จะพบปรสิตอยู่เป็นจำนวนมาก การติดเชื้อในทางเดินอาหารนี้ ถ้าพบมี อาการติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้สัตว์ตายได้ ส่วนสาเหตุที่มีการติดเชื้อปรสิต เกิดจากสภาพแหล่งที่อยู่อาศัยสกปรก การอยู่อาศัยในพื้นที่จำกัดอย่างหนาแน่น และการอาศัยในแหล่งที่มีเจ้าบ้านตัวกลางของปรสิตชนิดต่างๆ รวมด้วย ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญในการเกิดการติดเชื้อปรสิตได้

การศึกษาการติดเชื้อปรสิตของกบในประเทศไทยนั้น ยังไม่พบมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย แม้ว่าสัตว์ในกลุ่มนี้จะมีความหลากหลายสูงก็ตาม ดังนั้น การศึกษาการติดเชื้อปรสิตในกบ สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพ และปริมาณของกบได้

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อศึกษา และจำแนกชนิดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในกลุ่มกบ ในเขตพื้นที่เป้าหมาย
- 1.2.2 เพื่อศึกษา และจำแนกชนิดของปรสิตที่พบในกบ ในเขตพื้นที่เป้าหมาย
- 1.2.3 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดกบและปรสิตที่พบ
- 1.2.4 เพื่อให้เกิดความร่วมมือระหว่างหน่วยงานทั้งภายในประเทศ และต่างประเทศ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.3.1 ทราบวิธีการจำแนก และทราบชนิดของกบที่พบในพื้นที่เป้าหมาย
- 1.3.2 ทราบวิธีการจำแนก และทราบชนิดของปรสิตที่พบในกบ ในพื้นที่เป้าหมาย
- 1.3.3 ทราบความสัมพันธ์ของกบ และปรสิตที่พบในกบ
- 1.3.4 ได้เครือข่ายความร่วมมือระหว่างหน่วยงานทั้งภายใน และต่างประเทศ

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.4.1 สัตว์ตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย ได้แก่ สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในกลุ่มกบ
- 1.4.2 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย เดือนสิงหาคม 2557 – มิถุนายน 2558
- 1.4.3 สถานที่เก็บตัวอย่าง คือ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดบึงกาฬ
- 1.4.4 สถานที่ทำการวิจัย ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เพื่อการวิจัยและพัฒนาท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลุ่มกบในประเทศไทยมีความหลากหลายมาก ประมาณ 123 ชนิด (Khonsue & Thirakhupt, 2001) และยังมีที่รายงานการพบกบสายพันธุ์ใหม่ในประเทศไทย (Bain & Stuart, 2005; Matsui & Panha, 2006; McLeod & Ahmad, 2007) อย่างไรก็ตาม การศึกษาด้านความหลากหลายในกบที่พบในประเทศไทยยังมีการรายงานไม่มากนัก

นอกจากนี้สถานภาพ และการกระจายของสายพันธุ์กบในประเทศไทย ยังมีการศึกษาค่อนข้างจำกัด ส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยที่ศึกษาเมื่อนานมาแล้ว อีกทั้งการนำเทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้ในการจำแนกชนิดกบก็เป็นไปอย่างจำกัดเช่นเดียวกัน ในส่วนของพื้นที่ที่ทางคณะวิจัยต้องการลงพื้นที่เพื่อศึกษานั้น ก็พบว่ายังไม่มีมีการรายงานข้อมูลด้านความหลากหลายของกบ ซึ่งก็คือ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดบึงกาฬ

การศึกษาเกี่ยวกับประวัติจำพวกเฮลมินท์ หรือด้านความหลากหลายของกบในประเทศไทยยังมีข้อจำกัด แม้ว่ากบจะมีหลากหลายชนิด หรือแม้แต่ประวัติที่เป็นปัจจัยหนึ่งในการควบคุมประชากรกบก็ตาม ซึ่งมีงานวิจัยที่เด่นชัดอยู่ 4 ฉบับ โดย 2 ฉบับเป็นการจำแนกชนิดของเฮลมินท์ และอีก 2 ฉบับเป็นการรายงานการพบปรสิตสายพันธุ์ใหม่ 2 สปีชีส์ นอกจากนี้ Wongsawad et al. (2004) ได้ศึกษาลูกออด 2 สปีชีส์ และในกบเต็มวัยอีก 7 สปีชีส์ ที่มีการพบทริมาโทด และนีมาโทดหลายสปีชีส์ และอะแคนโทเซฟาโล 1 สปีชีส์ อย่างไรก็ตามบางชนิดยังไม่มีการรายงานการจำแนกในระดับสปีชีส์ เนื่องจากตัวอย่างที่มีการเผยแพร่ข้อมูลพบมีเพียงเพศเดียว เช่น ในนีมาโทด (ที่ต้องพบทั้งสองเพศจึงจะสามารถจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้อง) ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงต้องการจะศึกษาเกี่ยวกับเฮลมินท์ในกบที่พบในประเทศไทย เพื่อการจำแนกชนิดของเฮลมินท์ที่พบได้อย่างถูกต้องมากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้ยังมีการรายงานเกี่ยวกับ Grass Frog *Fejervarya limnocharis* จากนาข้าวที่ จ. เชียงใหม่ (Boonboonchoo, Na Chiangmai & Wongsawad, 2011) ที่มีการพบเฮลมินท์ชนิดเดียวกับที่เคยรายงาน แต่ก็ยังไม่มีการจำแนกในระดับสปีชีส์

การศึกษาด้านอนุกรมวิธานของเฮลมินท์นั้น ได้มีการอธิบายการพบสปีชีส์ใหม่ของทริมาโทด (*Pleurogenes chiangmaiensis*) โดย Sey & Wongsawad (1999) ในกบที่ไม่ได้จำแนกสปีชีส์ ซึ่งในการอธิบายพื้นฐานสปีชีส์ของปรสิตนั้น จำเป็นที่จะต้องทราบเจ้าบ้านที่มีการจำแนกสปีชีส์อย่างถูกต้อง

ด้วยเช่นกัน ซึ่งงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยในครั้งนี้ ที่ทางคณะผู้วิจัยต้องการจำแนกสปีชีส์ของ
เจ้าบ้านก็คือกบ และสปีชีส์ของปรสิตที่พบในกบ ไปพร้อมๆ กัน

นอกจากนี้มีการรายงานการพบเฮลมินท์ในประเทศไทย ที่เป็นนีมาโทดสปีชีส์ใหม่ คือ
Rhabdias kongmongthaensis โดย Kuzmin, Tkach & Vaughan (2005) จาก Tree Frog *Polypedates*
leucomystax (Rhacophoridae) จาก จ.กาญจนบุรี ซึ่งงานวิจัยนี้เป็นเพียงเรื่องเดียวที่เป็นงานวิจัยที่มี
คุณภาพเพียงพอในการจำแนกชนิดของเฮลมินท์

จากรายงานที่มีอยู่ สรุปได้ว่าในประเทศไทยมีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจำพวกกบ ประมาณ
130 สปีชีส์ ซึ่งมีเพียง 10 สปีชีส์เท่านั้นที่มีการศึกษาเกี่ยวกับปรสิตในกบชนิดนั้นๆ ด้วยเหตุนี้ทาง
คณะผู้วิจัยจึงต้องการที่จะศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของเฮลมินท์ที่พบในกบ ซึ่งต้องมีการศึกษา
และเก็บข้อมูลให้เพียงพอต่อการจัดจำแนกให้ถูกต้องตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งการศึกษาความ
หลากหลายของกบในพื้นที่เป้าหมาย เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดบึงกาฬ

โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความหลากหลายชนิดของกบ รวมทั้งเพื่อศึกษาปรสิตที่พบ
ในกบในพื้นที่เป้าหมาย

การศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของเฮลมินท์นั้น สามารถช่วยให้เรามีความเข้าใจเกี่ยวกับ
ความหลากหลายของกบ และความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของกบและปรสิตที่พบได้ดียิ่งขึ้น
โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่เป้าหมายทั้งสองแห่งนี้ ที่ยังไม่มีรายงานการศึกษาในหัวข้อวิจัยนี้มาก่อน

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 ชุดมีดผ่าตัด

3.1.2 ปีกเกอร์

3.1.3 จานเพาะเชื้อ

3.1.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.5 Dropper

3.1.6 เข็มหมุด

3.1.7 ถาดผ่าตัด

3.1.8 Eppendorf

3.1.9 Vial

3.1.10 เครื่องชั่งละเอียด บริษัท MEMERT TOLEDO รุ่น PL 202-S

3.1.11 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง บริษัท OLMPUS รุ่น CH 70

3.1.12 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ บริษัท OLMPUS รุ่น XTD-217

3.1.13 Slide

3.1.14 Cover Glass

3.1.15 Forceps

3.1.16 กล้องถ่ายภาพสำหรับกล้องจุลทรรศน์ (Microscope Digital Camera) บริษัท BMS รุ่น

ST 070310434

3.1.17 แผ่นพลาสติกใส

3.1.18 อุปกรณ์ติดฉลาก พร้อมสติ๊กเกอร์

3.1.19 ปากกาเขียนกระຈก

3.1.20 ปากกาเขียนสไลด์

3.1.21 ถุงผ้าตาข่าย

3.1.22 ถังพลาสติก

3.1.23 เครื่องวัดพิกัดทางภูมิศาสตร์

- 3.1.24 โคมไฟ
- 3.1.25 ตู้แช่เก็บตัวอย่าง (4°C และ -20 °C)
- 3.1.26 ไฟฉายและแบตเตอรี่
- 3.1.27 ขวดเก็บตัวอย่าง
- 3.1.28 กล่องเก็บตัวอย่าง ขนาด 96 ตัวอย่าง
- 3.1.29 Plastic Pipette 1 mL
- 3.1.30 นาฬิกาจับเวลา

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- 3.2.1 Normal Saline
- 3.2.2 Amphibian Saline
- 3.2.3 Ethyl Alcohol
- 3.2.4 HgCl_2
- 3.2.5 HCl
- 3.2.6 NaOH
- 3.2.7 Ammonia
- 3.2.8 Canada Balsam
- 3.2.9 Semichon's Acetocarmine
- 3.2.10 Hematoxylin
- 3.2.11 Formaldehyde
- 3.2.12 Toluene
- 3.2.13 Distilled H_2O
- 3.2.14 MS222

3.3 การเก็บตัวอย่าง

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างกบด้วยมือ และใช้ไฟฉายส่องในเวลากลางคืน ในบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดบึงกาฬ โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมด จำนวน 114 ตัว

3.4 การคัดแยกปรสิตจากกบ

- 3.4.1 สังเกต และบันทึกอาการ

นำสัตว์ตัวอย่างที่สุ่มเก็บมาทำการสังเกต และบันทึกอาการภายนอก ซึ่งน้ำหนัก และวัดขนาด แล้วทำการจำแนกชนิดของสัตว์ในกลุ่มนี้ด้วยคู่มือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเมืองไทย (ธัญญาจันอาจ, 2546; Taylor, 1962) แล้วเปรียบเทียบชื่อวิทยาศาสตร์กับฐานข้อมูลของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (Frost, 2015) จากนั้นทำการสลับตัวอย่างด้วยการนำไปแช่ในสารละลาย MS222 ที่ความเข้มข้นของสารละลาย 1 g/L เมื่อตัวอย่างสลับแล้ว ให้เปิดช่องท้องด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ สังเกต และบันทึกลักษณะภายในช่องท้อง จากนั้นเก็บอวัยวะเป้าหมาย คือ ลำไส้ใหญ่ ลำไส้เล็ก กระเพาะอาหาร และปอด โดยแยกแต่ละอวัยวะใส่ในจานเพาะเลี้ยง

3.4.2 การตรวจหาปรสิตด้วยวิธีทางชีววิทยาโดยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic Technique)

3.4.2.1 นำอวัยวะเป้าหมาย ได้แก่ ลำไส้ใหญ่ ลำไส้เล็ก กระเพาะอาหาร และปอด มาผ่าไต่กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เมื่อพบโปรโตซัวใช้ Dropper ดูดโปรโตซัวใส่ Eppendorf 1.5 mL

3.4.2.2 หลอดที่ 1 เติม Absolute Ethanol (เพื่อเก็บไว้ใช้ศึกษาในระดับ DNA ต่อไป) หลอดที่ 2 เติม Formaldehyde (เพื่อเก็บไว้ใช้ศึกษาในระดับเนื้อเยื่อต่อไป) จากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็น ต่อจากนั้นใช้ Dropper ดูดโปรโตซัวใส่แผ่นสไลด์ 2 แผ่น (เพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์) ปล่อยให้แห้งแต่แห้งพอหมาดๆ เติม HgCl_2 ลงไป เพื่อให้โปรโตซัวติดแน่นขึ้นบนแผ่นสไลด์ (Fixation) จากนั้นปล่อยให้แห้งสนิท

3.4.2.3 การตรวจหาปรสิต โดยนำอวัยวะเป้าหมาย ได้แก่ ลำไส้ใหญ่ ลำไส้เล็ก กระเพาะอาหาร และปอด มาผ่าไต่กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เมื่อพบพยาธิ ใช้ Dropper ดูดพยาธิใส่ลงในขวด Vial จากนั้นก็เติม 70% Ethanol ลงไปให้ท่วมตัวพยาธิโดยเก็บชนิดละ 1 ขวด แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C

หมายเหตุ: การเติม Absolute Ethanol และ Formaldehyde เพื่อทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ ซึ่งการเก็บตัวอย่างใน 70% Ethanol นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการเก็บรักษาหรือคงสภาพของตัวอย่างได้ดีที่สุด

3.5 การจำแนกปรสิตด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

3.5.1 การย้อมสีโปรโตซัว

3.5.1.1 นำสไลด์ที่เติม HgCl_2 แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง มาย้อมในสี Hematoxilin เป็นเวลา 15 นาที

3.5.1.2 เมื่อครบ 15 นาที นำไปแกว่งใน 70% Ethanol เพื่อล้างสีส่วนที่เกินออก

3.5.1.3 จากนั้นนำแผ่นสไลด์ตัวอย่างมาผ่านกระบวนการดึงน้ำออก (Dehydration) โดยการแช่ในสารละลาย Ethanol ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 75%, 85%, 95%, 100% และ 100% ความเข้มข้นละ 5 นาที แล้วนำออกมาวางในบนตะแกรง

3.5.1.4 ขั้นตอนสุดท้ายหยด Canada Balsam ลงบนแผ่นสไลด์ แล้วใช้กระจกปิดสไลด์ปิด (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศขณะที่ปิดกระจกสไลด์ลงบนแผ่นสไลด์)

3.5.1.5 จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วทำการถ่ายภาพเพื่อบันทึกผล

3.5.2 การย้อมสีปรีสไลต์

3.5.2.1 นำตัวอย่างพยาธิที่เก็บใน 70% Ethanol มาย้อมสี Semichon's Acetocarmine เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง

3.5.2.2 นำพยาธิลงไปแช่ใน 70% Ethanol จำนวน 2 รอบๆ ละ 20-30 นาที

3.5.2.3 นำพยาธิจาก 70% Ethanol ลงไปแช่ใน 70% Ethanol ที่เติม 1 mL HCl (1 N/10 mL) เป็นเวลา 3 นาที

3.5.2.4 จากนั้นนำตัวอย่างลงไปแช่ใน 70% Ethanol ที่เติม 1 mL NaOH (1 N/10 mL) หรือ 1 mL NH₃ (1 N/10 mL) เป็นเวลา 3 นาที

3.5.2.5 ตีร้งน้ำออกด้วย 70% Ethanol 10 นาที, 80% Ethanol 20-30 นาที, 95% Ethanol 20-30 นาที และ 100% Ethanol 20-30 นาที

3.5.2.6 ขั้นตอนสุดท้ายนำตัวอย่างลงไปแช่ในโทลูอิน (Toluene) เป็นเวลา 20-30 นาทีเสร็จแล้วนำตัวอย่างลงบนแผ่นสไลด์ ระวังอย่าให้ตัวอย่างแห้ง แล้วหยด Canada Balsam ปิดกระจกปิดสไลด์เพื่อทำสไลด์ถาวร

3.5.2.7 นำตัวอย่างไปศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แล้วทำการถ่ายภาพเพื่อบันทึกผล

หมายเหตุ: กระบวนการดึงน้ำออก (Dehydration) คือ การทำแห้ง หรือการดึงน้ำออก อาจเรียกว่า Drying โดยการทำให้แห้ง คือ การรักษาตัวอย่างให้คงสภาพ และนิยมใช้มานาน โดยลดความชื้น (Moisture Content) ซึ่งความชื้นมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลกระทบที่เกิดจากกิจกรรมต่างๆ ที่ดำเนินการโดยมนุษย์ เช่น 1) ภาวะโลกร้อนที่เกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงต่างๆ รวมทั้งสาเหตุที่ทำให้ฤดูกาลต่างๆ ปรวนแปร เช่น ฝนไม่ตกต้องตามฤดูกาล ภาวะแห้งแล้ง 2) การบุกรุกที่อยู่อาศัยของกบโดยการตัดไม้ทำลายป่า และการสร้างสิ่งก่อสร้างต่างๆ ในพื้นที่ธรรมชาติ 3) การบริโภคกบจากธรรมชาติทั้งในระยะตัวเต็มวัย และระยะตัวอ่อน อันจะเป็นการตัดวงจรการเจริญของกบ 4) การใช้สารเคมีในพื้นที่การเกษตร และพื้นที่ธรรมชาติ ทำให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในกบ ซึ่งเป็นสัตว์ที่มีผิวหนังบางง่ายต่อการดูดซับสารเคมีต่างๆ ที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม ปัจจัยเหล่านี้ล้วนแต่เป็นสาเหตุให้จำนวนและชนิดของกบในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็วจากการกระทำของมนุษย์ นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยที่ไม่ได้เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่ง คือ ปัญหาการแพร่ระบาดของโรคต่างๆ อีกทั้งยังพบว่าเชื้อโรคบางชนิดเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้กบหลาย ๆ สายพันธุ์สูญพันธุ์ไปจากโลกแล้วนั้น

ดังนั้น โครงการวิจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับการศึกษาความหลากหลายชนิดของกบ และปรสิตในกบ จึงเป็นหัวข้อที่คณะผู้วิจัยได้ให้ความสำคัญเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดบึงกาฬ ซึ่งเป็นพื้นที่ทางธรรมชาติที่ยังมีความอุดมสมบูรณ์สูง โดยผลวิจัยที่ได้ทำให้ทราบถึงแนวโน้มการแพร่กระจายของเชื้อปรสิตในระบบนิเวศแห่งนี้ รวมทั้งความเสี่ยงในการเกิดโรคที่อาจแพร่กระจายมาสู่มนุษย์ โดยที่มีกบเป็นโฮสต์สื่อกลางได้เป็นอย่างดี โดยผลการวิจัยที่ได้ มีดังนี้

4.1 พื้นที่เก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดบึงกาฬ (ภาพที่ 4.1) ซึ่งเป็นแหล่งที่มีความสมบูรณ์ทางธรรมชาติสูง โดยพื้นที่ดังกล่าวครอบคลุมเนื้อที่ประมาณ 186.5 ตารางกิโลเมตร หรือ 116,562 ไร่ อยู่ในขอบเขตพื้นที่ตำบลหนองเต็ง ตำบลบึงคล้า และตำบลโคกกวาง อำเภอบึงคล้า ตำบลบ้านด้อง และตำบลโสกก้าม อำเภอเซกา ตำบลชัยพร อำเภอบึงกาฬ และตำบลท่าดอกคำ อำเภอบึงโขงหลง จังหวัดบึงกาฬ โดยป่าส่วนใหญ่เป็นป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง และป่าดิบชื้น มีส่วนน้อยที่เป็นทุ่งหญ้า และป่าไผ่กระจายอยู่ทั่วไป และป่าแห่งนี้ยังเป็นต้นกำเนิดของแม่น้ำหลายสาย



ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของสถานที่เก็บตัวอย่าง

4.2 การจำแนกชนิดของกบ

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างด้วยมือเปล่า โดยใช้ไฟฉายส่องในเวลากลางคืน ในบริเวณพื้นที่เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว (ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ และความร่วมมือในการเก็บรวบรวมตัวอย่างจากเจ้าหน้าที่เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดบึงกาฬ) โดยตัวอย่างที่รวบรวมได้นั้น เมื่อนำมาสังเกตลักษณะภายนอกและภายใน ไม่พบความผิดปกติของตัวอย่างทั้งลักษณะภายนอก และลักษณะภายใน หลังจากทำการเปิดช่องท้องด้วยวิธีการปลอดเชื้อแล้ว โดยสามารถเก็บตัวอย่างได้รวมทั้งหมด จำนวน 115 ตัวอย่าง จากการจำแนกชนิดของกบโดยการนำภาพถ่ายของตัวอย่างที่ได้มาเปรียบเทียบกับคู่มือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก โดยธัญญา จั่นอาจ (2546) และ Taylor (1962) โดยมีลำดับการจำแนกดังนี้

อาณาจักร: Animalia

ไฟลัม: Chordata

ชั้น: Amphibia

ชั้นย่อย: Lissamphibia

อันดับ: Anura

แบ่งได้ จำนวน 5 วงศ์ ได้แก่ Dicoglossidae, Bufonidae, Ranidae, Rhacophoridae และ Microhylidae ซึ่งพบทั้งหมด 16 สปีชีส์ ดังนี้

4.2.1 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Haplobatrachus rugulosus* อยู่ในวงศ์ Dicoglossidae

ชื่อสามัญ: กบนา (Rugose Frog)

ลักษณะเด่น: ลำตัวสีเขียวมะกอกอมน้ำตาล หลังและสี่ข้างมีจุดดำจางๆ กระจายอยู่ทั่วไป ท้องสีเทา ไตคางมีลายขีดยาวๆ สีดำ (ภาพที่ 4.2)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบทั่วไปตามแหล่งน้ำจืดในที่ราบลุ่ม เช่น หนอง บึง คู คลอง นาข้าว และบริเวณรอบนอกป่าไม้ ปัจจุบันนิยมเลี้ยงในเชิงเศรษฐกิจ



ภาพที่ 4.2 *Haplobatrachus rugulosus*

4.2.2 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Fejervarya limnocharis* อยู่ในวงศ์ Dicoglossidae

ชื่อสามัญ: กบหนอง (Rice Field Frog)

ลักษณะเด่น: ลำตัวมีสีเขียวมะกอก บนหลังมีจุดสีน้ำตาลเข้มขนาดใหญ่ กระจายอยู่ทั่วไป ขอบปากบนและล่างมีแถบสีเข้ม บางตัวอาจจะมีเส้นกลางตัว ท้องสีขาวออกครีม (ภาพที่ 4.3)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบอาศัยอยู่ตามพื้นที่ราบ พื้นที่เกษตรกรรม และป่าไม้



ภาพที่ 4.3 *Fejervarya limnocharis*

4.2.3 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Duttaphrynus melanostictus* อยู่ในวงศ์ Bufonidae

ชื่อสามัญ: Black-Spined Toad

ลักษณะเด่น: สีผิวหนังเป็นสีน้ำตาลหรือสีเทาตลอดทั้งลำตัว บริเวณรอบปุ่มพิษจะมีสีเข้มกว่าบริเวณอื่นๆ ใต้ท้องเป็นสีน้ำตาลเหลืองอ่อน (ภาพที่ 4.4)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบกระจายพันธุ์ทั่วไปในวงกว้างในทวีปเอเชีย



ภาพที่ 4.4 *Duttaphrynus melanostictus*

4.2.4 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Hylarana nigrovittata* อยู่ในวงศ์ Ranidae

ชื่อสามัญ: Dark-Sided Frog

ลักษณะเด่น: ลำตัวสีน้ำตาลอมเขียวมะกอก ข้างลำตัวมีสีดำ ด้านในของต้นขามีลายร่างแหสีดำ-เขียว มีลวดลายพลาตีสีเข้ม (ภาพที่ 4.5)

แหล่งที่อยู่อาศัย: อาศัยอยู่ตามลำน้ำทั่วไป พบได้ทุกภาค



ภาพที่ 4.5 *Hylarana nigrovittata*

4.2.5 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Hylarana lateralis* อยู่ในวงศ์ Ranidae

ชื่อสามัญ: Yellow-Backed Frog

ลักษณะเด่น: หลังมีสีน้ำตาลอมเขียวหรือสีน้ำตาลเหลืองหรือสีน้ำตาลแดง (ภาพที่ 4.6)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบในป่าโปร่ง



ภาพที่ 4.6 *Hylarana lateralis*

4.2.6 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Hylarana erythraea* อยู่ในวงศ์ Ranidae

ชื่อสามัญ: เขียดบัว หรือเขียดจิก (Green-Backed Frog)

ลักษณะเด่น: ลำตัวเขียวสดแล้วจางลงทางด้านกัน จนเป็นสีน้ำตาลอ่อน สันต่อมนูนที่ขอบหลังมีสีเหลือง ขอบปากมีสีขาว ขามีสีเหลืองอมแดงหรือสีน้ำตาลอมแดง ไม่มีลายพาด ท้องมีสีขาว (ภาพที่ 4.7)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบทุกภาค



ภาพที่ 4.7 *Hylarana erythraea*

4.2.7 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Polypedates leucomystax* อยู่ในวงศ์ Rhacophoridae

ชื่อสามัญ: Common Treefrog

ลักษณะเด่น: ลำตัวมีสีเทาหรือสีน้ำตาลอมเหลือง กลางหลังมีจุดหรือแต้มสีเข้ม หรือมีขีดยาว 4 เส้นขนานกัน ขามีลายพาดสีเข้ม (ภาพที่ 4.8)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบทุกภาค



ภาพที่ 4.8 *Polypedates leucomystax*

4.2.8 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Kaloula pulchra* อยู่ในวงศ์ Microhylidae

ชื่อสามัญ: Bubble Frog

ลักษณะเด่น: ลำตัวด้านหลังมีสีออกน้ำตาลคล้ำ หรือสีน้ำตาลแกมแดง มีลายแถบกว้างสีน้ำตาลอ่อนพาด (ภาพที่ 4.9)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบทุกภาคของไทย



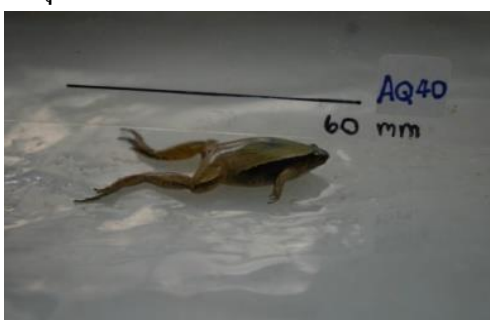
ภาพที่ 4.9 *Kaloula pulchra*

4.2.9 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Microhyla heymonsi* อยู่ในวงศ์ Microhylidae

ชื่อสามัญ: Dark-Sided Chorus Frog

ลักษณะเด่น: ลำตัวมีสีชมพูหรือสีเทา จากปลายหัวมาทางด้านข้างลำตัวไปจนจรดซอกขา หลังมีแถบสีดำพาด กลางหลังมีเส้นแคบสีจางพาดตามแนวสันหลัง ด้านหน้าของต้นขา ด้านล่างของแขนงและตีนมีสีดำ ขามีลายพาดสีเข้ม ท้องสีขาวนูน (ภาพที่ 4.10)

แหล่งที่อยู่อาศัย: ทุกภาคของไทย



ภาพที่ 4.10 *Microhyla heymonsi*

4.2.10 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Microhyla butleri* อยู่ในวงศ์ Microhylidae

ชื่อสามัญ: Noisy Frog

ลักษณะเด่น: ลำตัวมีสีเทา ที่สีข้างและขามีสีแดงอ่อนๆ กลางหลังมีลวดลายสมมาตรกัน ขอบของลายหยักเป็นคลื่นสีจางลงมาถึงสีข้าง และเป็นลายพาดมาที่ขา ได้ตามขีดสีจางเฉียง 1 ขีด ปลายหัวมีจุดสีขาว คอและอกแต้มด้วยสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.11)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบทั่วทุกภาคของไทย



ภาพที่ 4.11 *Microhyla butleri*

4.2.11 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Kalophrynus interlineatus* อยู่ในวงศ์ Microhylidae

ชื่อสามัญ: Spotted Narrow-Mouthed Frog

ลักษณะเด่น: ลำตัวอ้วนกลม ตามลำตัวมีตุ่มเล็กๆ กระจายทั่ว ท้องสีเทาหรือดำ ลำตัวมีหลายสี เช่น เทา เหลือง น้ำตาล อาจมีหรือไม่มีลายขีดหรือจุดบนหลัง (ภาพที่ 4.12)

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบทุกภาค ยกเว้นภาคใต้ ตั้งแต่ จ.ชุมพรลงไป



ภาพที่ 4.12 *Kalophrynus interlineatus*

4.2.12 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Microhyla fissipes* อยู่ในวงศ์ Microhylidae

ชื่อสามัญ: Ornate Narrow-Mouthed Frog (ภาพที่ 4.13)

ลักษณะเด่น: หน้าสั้น ลำตัวด้านบนสีน้ำตาลเทา น้ำตาลเข้ม น้ำตาลเหลือง หรือสีน้ำตาลแดง มีลายรูปน้ำเต้าสีน้ำตาลเข้ม มีเส้นสีดำข้างจมูกผ่านตาต่อเนื่องไปตามสีข้าง ขามีลายพาดขวางสีน้ำตาลเข้มหรือเหลือง ตัวผู้คางสีดำ ท้องสีขาวเหลือง ปลายนิ้วเรียว เท้าหลังมีพังผืดเต็มความยาวนิ้ว

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบได้ทั่วทุกภาคของไทย



ภาพที่ 4.13 *Microhyla fissipes*

4.2.13 ชื่อวิทยาศาสตร์: *Microhyla pulchra* อยู่ในวงศ์ Microhylidae (ภาพที่ 4.14)

ชื่อสามัญ: Painted Chorus Frog

ลักษณะเด่น: บริเวณโคนขาหลังมีสีเหลืองทอง มีลายพาดสีเข้ม ก้น ท้อง ขาหนีบ และได้
ขามีสีเหลืองสด

แหล่งที่อยู่อาศัย: พบในบริเวณเดียวคือ ในป่าเต็งรังใกล้ถนน



ภาพที่ 4.14 *Microhyla pulchra*

4.3 การคัดแยกปรสิตในกบ

จากสัตว์ตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้จากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จำนวน 115 ตัวอย่าง พบมีการ
ติดเชื้อ 27 ตัวอย่าง โดยพบปรสิต 10 ชนิด ตัวอย่างที่ติดเชื้อมากที่สุด คือ AE06 (*Haplobatrachus*
rugulosus) พบปรสิต 4 ชนิด คือ *Amplificaecum*, Other Intestinal Nematodes, Intestinal Cestodes
และ *Raillettiella* และตัวอย่างที่มีการติดเชื้อปรสิต 3 ชนิด มี 4 ตัวอย่าง คือ 1) AE10 พบ *Rhabdias*,
Oswadocruzia และ Other Intestinal Nematodes 2) AJ13 พบ *Opalina*, *Rhabdias* และ Other
Intestinal Nematodes 3) AM04 พบ *Amplificaecum*, Other Intestinal Nematodes และ Lava of

Acanthocephala 4) AN01 พบ *Rhabdias*, *Amplicaecum* และ Other Intestinal Nematodes ดังตารางที่ 4.1

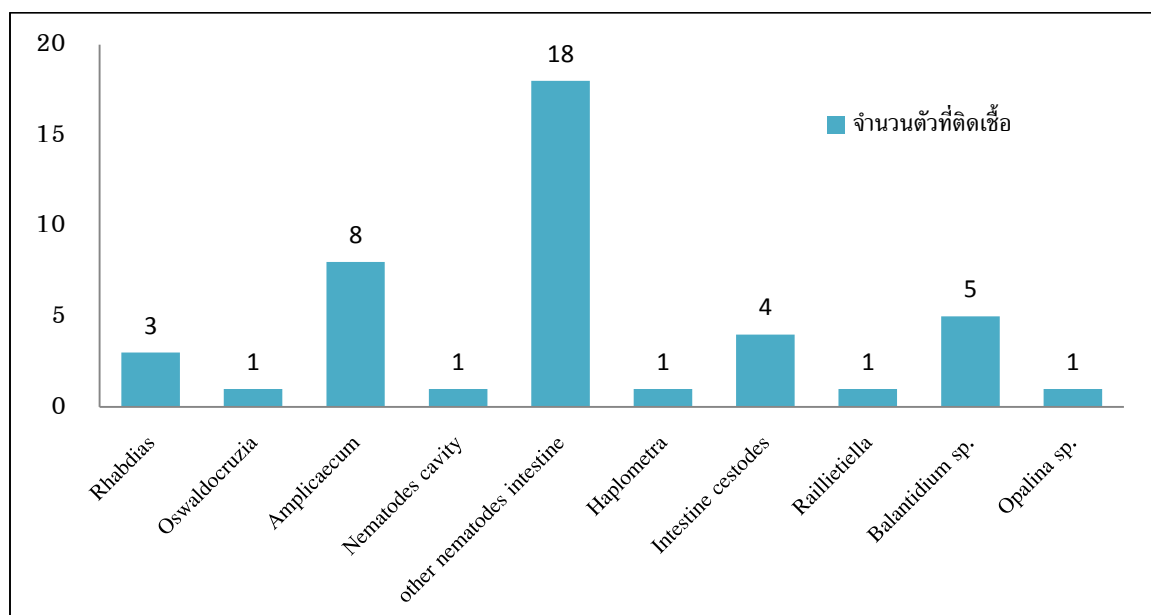
ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนและชนิดปรสิตที่พบในกบ

Frog	Protozoa					Parasite									
	<i>Balantidium</i>	<i>Opalina</i>	<i>Rhabdias</i>	<i>Oswaldocruzia</i>	<i>Amplicaecum</i>	Other Intestine Nematodes	Nematodes in Cavity	<i>Haplometra</i>	<i>Glypthelmins</i>	<i>Diplodiscus</i>	<i>Pseudoacanthocephalus</i>	Lava of Acanthocephala	Intestine Cestodes	<i>Spirometra erinaceieuropaei</i>	<i>Raillietiella</i>
<i>H. nigrovittata</i>	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. nigrovittata</i>	-	-	-	-	-	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. rugulosus</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. nigrovittata</i>	-	-	-	-	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. rugulosus</i>	-	-	-	-	3	7	-	-	-	-	-	-	2	-	2
<i>H. rugulosus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	3	-	-
<i>H. lateralis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. leucomystax</i>	-	-	1	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. rugulosus</i>	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. rugulosus</i>	√	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. nigrovittata</i>	√	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. nigrovittata</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. nigrovittata</i>	-	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตัวอย่างที่มีการติดเชื้อปรสิต 2 ชนิด มี 7 ตัวอย่าง คือ AE05 และ AE06 พบ *Amplicaecum* และ Other Intestinal Nematodes AE12 พบ *Amplicaecum* และ Nematodes in Cavity AE13 พบ *Balantidium* และ *Amplicaecum* AF22 พบ *Balantidium* และ Other Intestinal Nematodes AI13

พบ *Ampliceacum* และ Other Intestinal Nematodes AJ06 พบ *Rhabdias* และ Other Intestinal Nematodes

ตัวอย่างที่มีการติดเชื้อปรสิต 1 ชนิด มี 9 ตัวอย่าง คือ AE01, AF38 และ AL01 และ พบ *Balantidium* AE01, AE02, AJ07, AJ12, AL01 และ AN14 พบ Other Intestinal Nematodes สรุปได้ดังภาพที่ 4.15



ภาพที่ 4.15 แสดงการติดเชื้อปรสิตแต่ละชนิด

จากภาพที่ 4.15 จะเห็นว่า ปรสิตที่พบมากที่สุดคือ Nematodes ซึ่งมีทั้งหมด 5 กลุ่มย่อย คือ 1) *Rhabdias* มีตัวอย่างที่ติด 3 ตัวอย่าง 2) *Oswaldocruzia* มีตัวอย่างที่ติด 1 ตัวอย่าง 3) *Ampliceacum* มีตัวอย่างที่ติด 8 ตัวอย่าง 4) *Nematodes Cavity* มีตัวอย่างที่ติด 1 ตัวอย่าง 5) Other Intestinal Nematodes มีตัวอย่างที่ติด 18 ตัวอย่าง อันดับสอง คือ กลุ่มของ Protozoa มี 2 กลุ่มย่อย คือ 1) *Balantidium* มีตัวอย่างที่ติด 5 ตัวอย่าง 2) *Opalina* มีตัวอย่างที่ติด 1 ตัวอย่าง อันดับสาม คือ กลุ่มของ Cestodes มี 1 กลุ่มย่อย คือ Intestine Cestodes มีตัวอย่างที่ติด 4 ตัวอย่าง และอันดับสี่คือ Trematodes มี 1 กลุ่มย่อย คือ *Haplometra* มีตัวอย่างที่ติด 1 ตัวอย่าง และกลุ่ม Pentastomida มี 1 กลุ่มย่อยคือ *Raillietiella* มีตัวอย่างที่ติด 1 ตัวอย่าง

4.4 การจำแนกปรสิตในกบ

จากจำนวนตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด 27 ตัวอย่าง สามารถจำแนกปรสิตได้ทั้งหมด 10 ชนิด โดยจำแนกตามคุณสมบัติทางชีวเคมี สามารถจำแนกปรสิตได้เป็น 5 กลุ่ม คือ Protozoa, Pentastomida, Nematodes, Trematodes และ Cestodes ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 % การติดเชื้อปรสิตในกบ และอวัยวะเป้าหมาย

Parasites	Number of infected Frog	%Infection	Infected Organ
Nematoda			
<i>Rhabdias</i>	3	11.11	Lung
<i>Oswaldocruzia</i>	1	3.70	Intestine
<i>Amplificaecum</i>	9	33.33	Intestine
Nematodes in Cavity	1	3.70	Body Cavity
Other Intestinal Nematodes	18	66.66	Intestine
Trematoda			
<i>Haplometra</i>	1	3.70	Intestine
Cestoda			
Intestinal Cestodes	4	14.81	Intestine
Pentastomida			
<i>Raillietiella</i>	1	3.70	Lung
Protozoa			
<i>Balantidium</i>	5	18.51	Intestine
<i>Opalina</i>	1	3.70	Intestine

4.5 สันฐานวิทยาของปรสิตที่พบ

จากการเปรียบเทียบปรสิตที่ตรวจพบในตัวอย่างทั้งหมด สามารถจำแนกได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

4.5.1 Nematodes แบ่งเป็น 5 กลุ่มย่อย ดังนี้

4.5.1.1 *Rhabdias* คิดเป็น 11.11% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

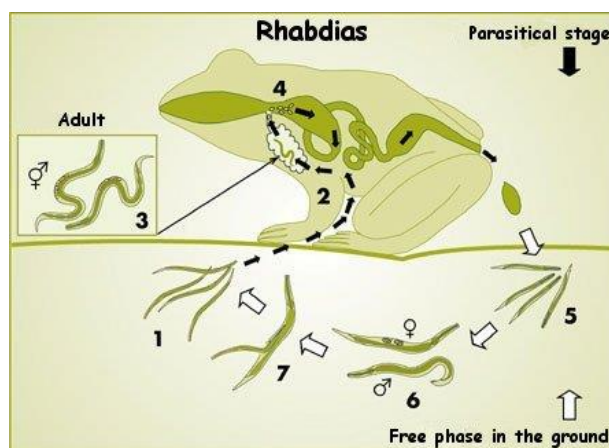
ชื่อปรสิต: *Rhabdias* (ภาพที่ 4.16)

ลักษณะ: รูปร่างยาวส่วนหางแหลม พบเฉพาะตัวเมีย
ไม่พบตัวผู้ ปากมีริมฝีปากเล็ก 6 พู มดลูกเป็นท่อขด
ไปมาภายในมีไข่ ออกกลูเป็นตัว พยาธิสกุลนี้พบในปอด
(ภาพที่ 4.17)

อวัยวะเป้าหมาย: ปอด



ภาพที่ 4.16 แสดงลักษณะของ *Rhabdias*



ภาพที่ 4.17 วงจรชีวิตของ *Rhabdias*

ที่มา: <http://www.pollywogsworldoffrogs.com/Text-html/frog-rx-parasites.html>

4.5.1.2 *Oswaldocruzia* คิดเป็น 3.70% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

ชื่อปรสิต: *Oswaldocruzia* (ภาพที่ 4.18)

ลักษณะ: มีรูปร่างยาวคล้ายเส้นด้าย ส่วนหัวมี Cervical Alae
ปากประกอบด้วยริมฝีปากเล็ก ๆ 6 พู หลอดอาหารเป็นท่อยาว
ตัวเมียหางเป็นรูปกรวยแหลม ตัวผู้ส่วนหางมีอวัยวะยึดเกาะ
ตัวเมีย เรียกว่า Bursa เป็นพยาธิที่พบในลำไส้

อวัยวะเป้าหมาย: ลำไส้



ภาพที่ 4.18 แสดงลักษณะของ *Oswaldocruzia*

4.5.1.3 กลุ่ม *Amplicaecum* คิดเป็น 33.33% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

ชื่อปรสิต: *Amplicaecum* (ภาพที่ 4.19)

ลักษณะ: เป็นหนอนตัวกลมขนาดใหญ่ ลำตัวกลม ยาว
เรียวยาว-ท้าย ไม่มีข้อปล้อง ไม่มีรยางค์ ผิวลำตัวปกคลุม
ด้วยสารคิวติน มีช่องว่างในลำตัวแบบไม่แท้จริง ยังไม่มีระบบ
เลือด ไม่มีระบบหายใจ
อวัยวะเป้าหมาย: ลำไส้



ภาพที่ 4.19 แสดงลักษณะของ *Amplicaecum*

4.5.1.4 กลุ่ม Nematodes in Body Cavity พบ 3.70% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

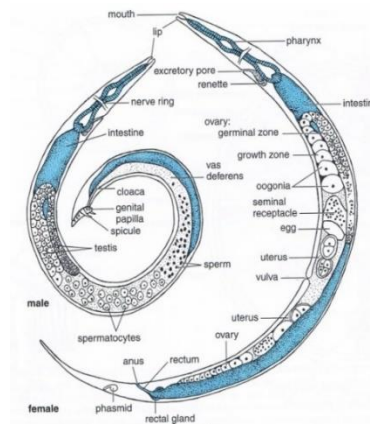
ชื่อปรสิต: Nematodes in Body Cavity

ลักษณะ: เป็นหนอนตัวกลมที่พบในเนื้อเยื่อของอวัยวะภายใน
อวัยวะเป้าหมาย: ช่องว่างกลางลำตัว

4.5.1.5 กลุ่ม Other Intestinal Nematodes เป็น Nematodes ที่พบในลำไส้ คิดเป็น 66.66% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

ชื่อปรสิต: Other Intestinal Nematodes (ภาพที่ 4.20)

ลักษณะ: พยาธิในกลุ่มนี้เป็นการรวมหนอนตัวกลมที่พบได้
ในลำไส้ และยังไม่มีการระบุในระดับสปีชีส์ จึงมีความหลากหลาย
ของลักษณะปรสิตไม่สามารถระบุลักษณะเด่นได้



ภาพที่ 4.20 ลักษณะทั่วไปของ Nematode

(<http://people.emich.edu/mkamins1/bio480/>)

4.5.2 Trematodes พบ 1 กลุ่มย่อย ดังนี้

4.5.2.1 กลุ่ม *Haplometra* คิดเป็น 3.70% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

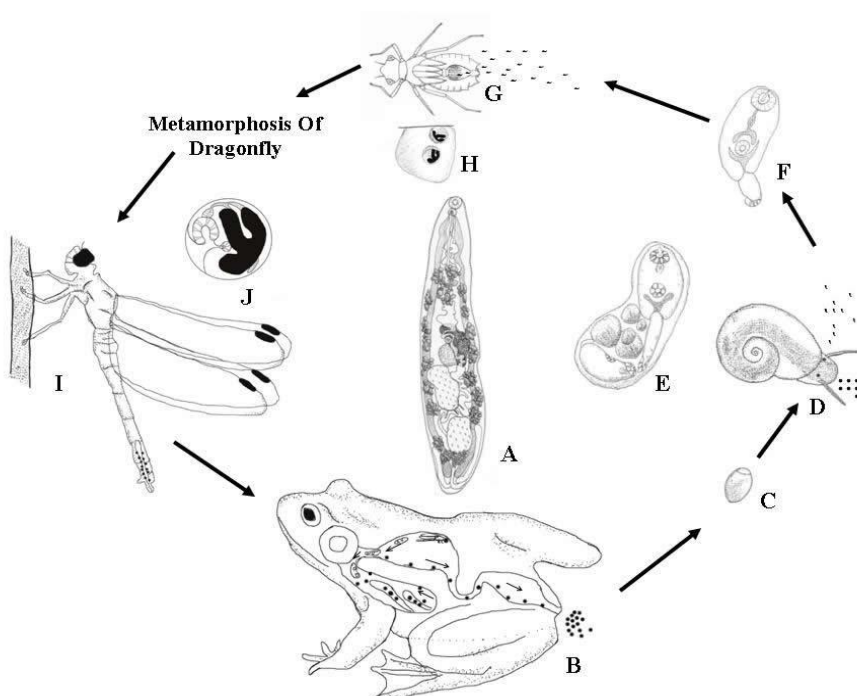
ชื่อปรสิต: *Haplometra* (ภาพที่ 4.21)

ลักษณะ: รูปร่างยาวรีรูปไข่ Oral Sucker ทางด้านหน้า อยู่ต่ำลงมาเล็กน้อยและมีขนาดใหญ่หรือเกือบเท่ากับ Ventral Sucker ลำตัวมีคอหอย ขนาดเล็กอยู่ใต้ Oral Sucker ต่อมรังไข่ กระจายอยู่สองข้างลำตัว ตั้งมีตัวอย่าง วงจรชีวิตของปรสิตในกลุ่ม Trematode แสดงในภาพที่ 4.22

อวัยวะเป้าหมาย: ลำไส้



ภาพที่ 4.21 แสดงลักษณะของ *Haplometra*



ภาพที่ 4.22 วงจรชีวิตของ Trematode

(<http://www.matthewbole.com/research/trematodesindex.html>)

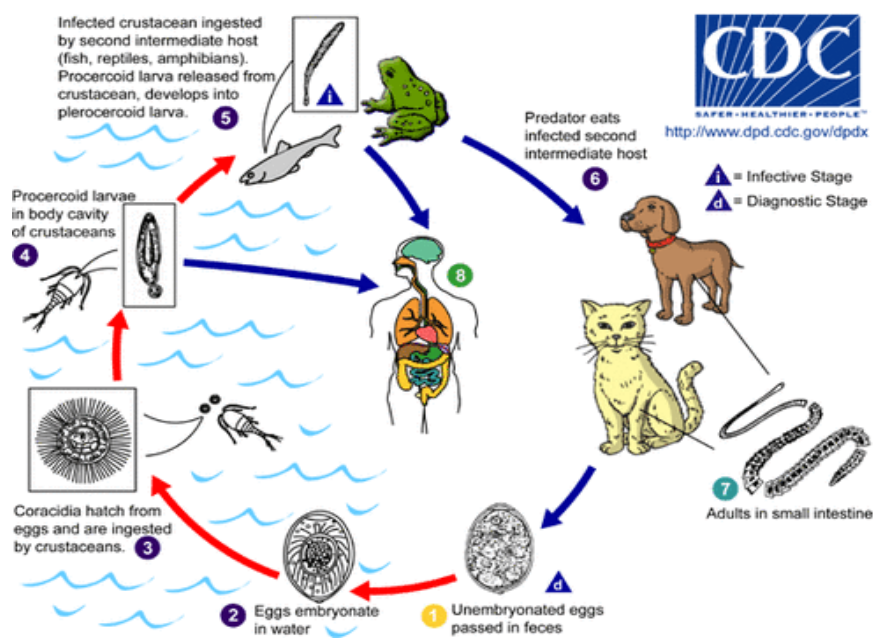
4.5.4 Cestoda พบ 1 กลุ่มย่อย ดังนี้

4.5.4.1 กลุ่ม Intestinal Cestodes คิดเป็น 14.81% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

ชื่อปรสิต: Intestinal Cestodes

ลักษณะ: เป็นปรสิตตัวสีขาว แบนยาวคล้ายริบบิ้น (ภาพที่ 4.23)

อวัยวะเป้าหมาย: ลำไส้



ภาพที่ 4.23 วงจรชีวิตของ *Spirometra erinaceieuropaei*

(<http://www.tekjournalismuk.com/odd-news/previous/3>)

4.5.5 Pentastomida พบ 1 กลุ่มย่อย คือ

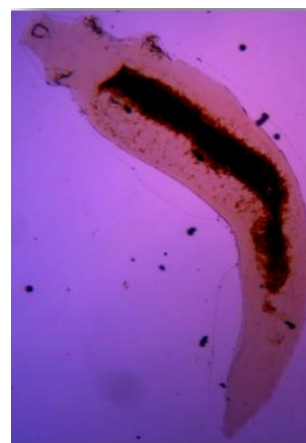
4.5.5.1 กลุ่ม *Raillietiella* คิดเป็น 3.70% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

ชื่อปรสิต: *Raillietiella* (ภาพที่ 4.24)

ลักษณะ: ส่วนหัวมี ปาก และกรงเล็บสังเกตได้อย่างชัดเจน

ตามลำตัวมีขนเล็ก

อวัยวะเป้าหมาย: ปอด



ภาพที่ 4.24 แสดงลักษณะของ *Raillietiella*

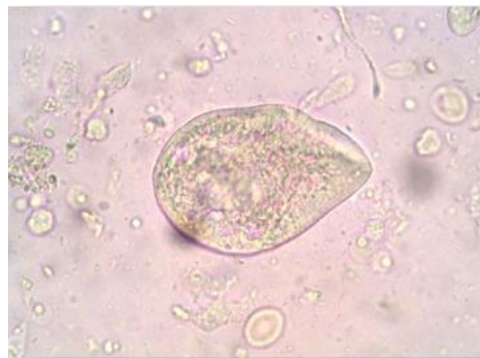
4.5.6 Protozoa ในงานวิจัยครั้งนี้เราพบ Protozoa ในกลุ่มซีเลียต 2 ดังนี้

4.5.6.1 กลุ่ม *Balantidium* คิดเป็น 18.51% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

ชื่อปรสิต: *Balantidium* (ภาพที่ 4.25)

ลักษณะ: พบโปรโตซัวชนิดนี้ในลำไส้ มีรูปร่างยาวรี ทางด้านหนึ่งแบนกว่าด้านท้ายเล็กน้อย ลำตัวปกคลุมด้วยขนสั้นๆ เรียงเป็นแถวตามยาวมีหลายแถว ลำตัวมีส่วนเว้าเข้าไปทำหน้าที่เหมือนปาก

อวัยวะเป้าหมาย: ลำไส้



ภาพที่ 4.25 แสดงลักษณะของ *Balantidium*

4.5.6.2 กลุ่ม *Opalina* คิดเป็น 3.70% ของตัวอย่างที่ติดเชื้อทั้งหมด

ชื่อปรสิต: *Opalina* (ภาพที่ 4.26)

ลักษณะ: พบได้ในลำไส้ มีลักษณะลำตัวแบน เป็นยาวรี มีขนสั้นๆ ไม่มีส่วนเว้าของลำตัวที่ทำหน้าที่เหมือนปาก มีนิวเคลียสหลายๆ อัน

อวัยวะเป้าหมาย: ลำไส้



ภาพที่ 4.26 แสดงลักษณะของ *Opalina*

บทที่ 5

สรุป และอภิปรายผล

กบเป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีช่วงชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในน้ำ จึงมีโอกาสดูดเชื้อโรค เช่น เชื้อปรสิต ได้สูงมาก เนื่องจากการกินอาหารทั้งสัตว์น้ำและสัตว์บกอาจมีระยะติดต่อของปรสิต หรือมีโอกาสดูดสัตว์ที่เป็นพาหะนำโรคหลายชนิดกัด ทำให้ติดปรสิตได้โดยง่าย โดยจากการศึกษาการติดเชื้อปรสิตในกบ ณ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดบึงกาฬ จากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้ 114 ตัวอย่าง พบอยู่ใน 5 วงศ์ ได้แก่ Dicroglossidae, Bufonidae, Ranidae, Rhacophoridae และ Microhylidae โดยมีทั้งหมด 13 สปีชีส์ พบมีการติดเชื้อปรสิตทั้งหมด 5 กลุ่ม ได้แก่ Nematodes, Trematodes, Cestodes, Pentastomida และ Protozoa

จากการศึกษาปรสิตในกบ พบที่มีการติดปรสิตทั้งหมด 27 ตัวอย่าง คิดเป็น 23.68% และพบว่าตัวอย่างมีการติดเชื้อปรสิตทั้งหมดมากกว่า 10 ชนิด ได้แก่ *Balantidium*, *Opalina*, *Raillettiella*, *Oswaldocruzia*, *Ampliaecum*, *Haplometra*, *Rhabdias*, Intestinal Cestodes, Other Intestinal Nematodes และ Nematodes in Cavity (โดย Nematodes และ Cestodes ที่พบในช่องว่างกลางลำตัว และในลำไส้ นั้น ยังไม่ได้ระบุถึงระดับจีสเนื่องจากข้อจำกัดทางด้านงบประมาณ)

ในการสำรวจปรสิตครั้งนี้พบปรสิตในกลุ่ม *Rhabdias* ในปอดของกบ ซึ่งสอดคล้องกับ Kuzmin et al. (2007) ที่พบ *Rhabdias pseudosphaerocephala* n. sp. และ *Rhabdias sphaerocephala* ในปอดของ *Bufo marinus* และ Kuzmin et al. (2005) ก็ยังมีรายงานการพบ *Rhabdias kongmongthaensis* sp. n. จากปอดของ *Polypedates leucomystax* โดยหนอนพยาธิที่อาศัยอยู่ในปอด หรือเนื้อเยื่ออื่นๆ ที่อาจทำให้เกิดโรคได้ เช่น *Rhabdias* พบว่าหากสัตว์มีการติดเชื้อ *Rhabdias* จำนวนมาก จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง หรืออาจตายได้ (มาลินี ฉัตรมงคลกุล และคณะ, 2550) ซึ่งพยาธิชนิดนี้พบเป็นปรสิตจำเพาะที่ปอด การติดต่อของเชื้อทำได้โดยการไชเข้าผิวหนังผ่านเนื้อเยื่อต่างๆ เข้าไปที่ปอด แล้วทำให้เกิดผลกระทบต่อโฮสต์ได้

ในปรสิตกลุ่ม Tematode พบเฉพาะ *Haplometra* เพียงชนิดเดียวในลำไส้ของกบ อย่างไรก็ตาม มีรายงานการพบ Trematodes หลายชนิดอยู่ในลำไส้ของกบจากธรรมชาติ เช่น *Diplodiscus mehrai*, *Mesocoelium brevicacwn*, *Encyclometra bungara* และ *Pleurogenoides mekongensis* (Scholz and Ditrich, 2013)

การพบโปรโตซัว 2 ชนิด คือ *Balantidium* และ *Opalina* ในกบจากธรรมชาติ ยังสอดคล้องกับ Li et al. (2013) ที่พบ *Balantidium* ในแหล่งธรรมชาติเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ก็ยังพบรายงานการพบ

Balantidium และ *Opalina* ในกบที่เลี้ยงในฟาร์มทางภาคใต้ของประเทศไทย (สุรเสน ศรীরิกานนท์ และคณะ, 2552) โดยทั้ง *Opalina* และ *Balantidium* เป็นปรสิตที่ทำให้กบในฟาร์มเลี้ยงมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากโปรโตซัวทั้งสองชนิดนี้เมื่อเข้าไปเติบโตในลำไส้ของกบ จะทำให้กบกินอาหารได้น้อย ตัวผอมซีด และตายได้ในที่สุด (สุรเสน ศรীরิกานนท์, 2552)

นอกจากนี้ ยังมีรายงานเกี่ยวกับการติดเชื้อปรสิตที่มีความสัมพันธ์กับอัตราการลดจำนวนลงของประชากรกบ เนื่องจากการติดเชื้อปรสิตบางชนิด ทำให้สัตว์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เช่น ลูกอ๊อดที่ติดเชื้อ *Balantidium* และ *Opalina* จำนวนมาก จะทำให้ไม่กินอาหาร ตัวผอมซีด และอาจทำให้ถึงตายได้ แต่ในกบตัวเต็มวัยที่มีการติดโปรโตซัวทั้งสองชนิดนี้ แม้จะไม่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ แต่ก็ทำให้ทำให้สัตว์มีภูมิคุ้มกันต่ำลง บางชนิดทำให้เคลื่อนไหวตัวได้ช้า ส่งผลให้ถูกนกกินล่าจับกินได้โดยง่าย เช่น *Rhabdias* ซึ่งเป็นปรสิตที่จำเพาะต่อปอดในกบ ถ้าพบกบมีการติด *Rhabdias* จำนวนมาก อาจทำให้กบเกิดอาการเจ็บป่วย และตายได้ (มาลินี จัตรมงคลสกุล และคณะ, 2550) นอกจากนี้ ปรสิตบางชนิดยังสามารถแพร่กระจายจากสัตว์มาสู่คนได้อีกด้วย เช่น *Balantidium*, *Raillietiella* และ *Cestodes* หลายชนิด ที่มีวงจรชีวิตที่สามารถติดต่อสู่สัตว์กินเนื้อได้

เอกสารอ้างอิง

- ธัญญา จั่นอาจ. 2546. คู่มือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในเมืองไทย. บริษัท ด้านสุทธาการพิมพ์ จำกัด. กรุงเทพฯ. 175 หน้า.
- มาลินี ฉัตรมงคลกุล, เจตจันทร์ เศรษฐสิทธิ์ และผุสดี ปริยานนท์. 2550. ปลีที่พบในกบนาในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุรเสน ศรีรักษานนท์. 2552. โรคกบนาจากฟาร์มเลี้ยงในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย. Princess of Naradhiwas University journal. 3: 102–117.
- Bain R & Stuart B. 2005. A new species of cascade frog (Amphibia: Ranidae) from Thailand, with new data on *Rana banaorum* and *Rana morafkai*. Nat. Hist. Bull. Siam Soc 53: 3–16. Retrieved from [http://bryanlstuart.com/site/Publications_files/Bain & Stuart 2005.pdf](http://bryanlstuart.com/site/Publications_files/Bain%20&%20Stuart%202005.pdf).
- Bootboonchoo P, Na Chiangmai K & Wongswad C. 2011. A survey of helminth infections in grass frogs, *Fejervarya limnocharis* (Gravenhorst, 1829) from Chiang Mai Province. In 37th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok.
- Frost DR. 2015. Amphibian species of the world: an online reference, Version 6.0. <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html> (accessed 3 August 2015).
- Khonsue W & Thirakhupt K. 2001. A checklist of the amphibians in Thailand. The Natural History Journal of Chulalongkorn University 1(1): 69–82.
- Kuzmin Y, Tkach VV & Brooks DR. 2007. *Rhabdias alabialis* sp. nov. and *R. pseudosphaerocephala* sp. nov. (Nematoda: Rhabdiasidae) in the marine toad, *Bufo marinus* (L.) (Lissamphibia: Anura: Bufonidae) in Central America. J. Parasitol. 93 (1): 159–165.
- Kuzmin Y Tkach VV & Vaughan JA. 2005. *Rhabdias kongmongthaensis* sp. n. (Nematoda: Rhabdiasidae) from *Polypedates leucomystax* (Amphibia: Anura: Rhacophoridae) in Thailand. Folia Parasitologica 52: 339–342.

- Li M, Li W, Zhang L & Wang C. 2013. *Balantidium honghuensis* n. sp. (Ciliophora: Trichostomatidae from the Rectum of *Rana nigromaculata* and *R. limnocharis* from Honghu Lake, China. Korean J Parasitol. 51(4): 427–431.
- Matsui M & Panha S. 2006. A new species of *Rhacophorus* from eastern Thailand (Anura: Rhacophoridae). Zoological Science 23: 477–481. doi:10.2108/zsj.23.477.
- Matthew Bolek. Trematode. [accessed: 2 June 2015]. Amphibian trematode life cycle. Available in: <<http://www.matthewbolek.com/research/trematodesindex.html>>
- McLeod DS & Ahmad N. 2007. A New Species of *Theloderma* (Anura: Rhacophoridae) from Southern Thailand and Peninsular Malaysia. Russian Journal of Herpetology 14: 65–72. Retrieved from <http://www.folium.ru/rjh/index.php/rjh/article/view/217>.
- Michael Kaminski. Survey of Michigan invertebrates. [accessed: 2 June 2015]. Phylum Nematoda. Available in: <<http://people.emich.edu/mkamins1/bio480/>>
- Pollywogs world of frogs. Parasites and frog health. [accessed: 2 June 2015]. *Rhabdias*. Available in: <<http://www.pollywogsworldoffrogs.com/Text-html/frog-rx-parasites.html>>
- Scholz T & Ditrich O. 2013. On some trematodes parasitizing amphibians in Laos, including a description of *Pleurogenoides mekongensis* sp. n. (Lecithodendriidae). Helminthologia. 30: 63–70.
- Sey O & Wongsawad C. 1999. Description of *Pleurogenes Chiangmaiensis* n. sp. (Trematoda, Pleurogenidae) from *Rana* sp. of Thailand. Rivista Di Parassitologia 16(60)(3): 221–225.
- Taylor EH. 1962. The amphibian fauna of Thailand. Univ Kansas Sci Bull 43: 265–599.
- Tek Journalism. Memory loss caused by rare brain tapeworm. [accessed: 2 June 2015]. Life cycle. Available in: <<http://www.tekjournalismuk.com/odd-news/previous/3>>
- Wongsawad C, Rojtinakorn J, Wongsawad P, Rojanapaibul A, Marayong T, Suwattanacoupt S & Jadhav B. 2004. Helminths of vertebrates in mae Sa Stream, Chiang Mai, Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 35(supp 1): 140–146.

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

- ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายอเล็กซิส ริบาส ซาลบาดอร์
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr.Alexis RIBAS SALVADOR
- เลขหมายหนังสือเดินทาง AAJ224949
- ตำแหน่งปัจจุบัน Invited Professor
- หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี อ.เมือง จ.อุดรธานี 41000
โทรศัพท์ 09 45391845 โทรศัพท์ 042 223233
โทรศัพท์มือถือ 08 45391845 e-mail: alexisribas@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

Degree	Institute/ University	Year
Doctorate	University of Barcelona (Spain)	2006
Master in Parasitology	University of Barcelona (Spain)	2002
Bachelor in Biology	University of Girona (Spain)	2001

6. ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ (เฉพาะปี 2015)

2015

- Frédéric Bordes, Serge Morand, Shai Pilosof, Julien Claude, Boris R. Krasnov, Jean-François Cosson, Yannick Chaval, **Alexis Ribas**, Kittipong Chaisiri, Kim Blasdel, Vincent Herbreteau, Stéphane Dupuy, Annelise Tran. 2015. Habitat fragmentation alters the properties of a host-parasite network: rodents and their helminths in South-East Asia. *Journal of Animal Ecology*, 84: 1253–1263.
- Ignasi Torre, Antoni Arrizabalaga, **Alexis Ribas**. 2015. The diet of the genet (*Genetta genetta* Linnaeus, 1758) as a source of information on local small mammal communities. *Galemys*, 27: 1–5.

- Kittipong Chaisiri, Praphaiphat Siribat, **Alexis Ribas**, Serge Morand. 2015. Potentially zoonotic helminthiasis of murid rodents from the Indo-Chinese Peninsula: impact of habitat and the risk of human infection. *Vector borne and zoonotic diseases*, 15: 73–85.
- Konstans Wells, Robert B. O'Hara, Serge Morand, Jean-Philippe Lessard, **Alexis Ribas**. 2015. The importance of parasite geography and spillover effects for global patterns of host-parasite associations in two invasive species. *Diversity and Distributions*, 21: 477–486.
- Marina Veciana, Odile Bain, Serge Morand, Kittipong Chaisiri, Bounneuang Douangboupha, Jordi Miquel, **Alexis Ribas**. 2015. *Breinlia* (*Breinlia*) *jittapalapongi* n. sp. (Nematoda: Filarioidea) from the Asian house rat *Rattus tanezumi* Temminck in Lao PDR. *Systematic Parasitology*, 90: 237–245.
- Mourad Khaldi, **Alexis Ribas**, Ghania Barech, Jean-Pierre Hugot, Meryam Benyettou, Lila Albane, Antoni Arrizabalaga, Violaine Nicolas. 2015. Molecular evidence supports recent anthropogenic introduction of the Algerian hedgehog *Atelerix algirus* in Spain, Balearic and Canary islands from North Africa. *Mammalia* (doi: 10.1515/mammalia-2014-0180).
- Serge Morand, Frédéric Bordes, Hsuan-Wien Chen, Julien Claude, Jean-François Cosson, Maxime Galan, Gábor Á Czirjak, Alex D Greenwood, Alice Latine, Johan Michaux, **Alexis Ribas**. 2015. Global parasite and *Rattus* rodent invasions: the consequences for rodent-borne diseases. *Integrative Zoology*, 10: 409–423.

ผู้วิจัยร่วม

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวศรีสุภาพ พูนลาภเดชา
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Srisupaph POONLAPHDECHA
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3709800214885
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองคณบดี คณะวิทยาศาสตร์
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี อ.เมือง จ.อุดรธานี 41000
โทรศัพท์ 042 211040 ต่อ 202 โทรสาร 042 341615
โทรศัพท์ มือถือ 091 1307659 e-mail: barracudus@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา

วุฒิ	สถาบัน	ปีที่จบการศึกษา
Ph.D. (Ecology)	Universite Montpellier2, Montpellier, France	2010
วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2005
วท.บ. เกียรตินิยมอันดับ 1 (วิทยาศาสตร์การประมง)	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง	2002

6. ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

Poonlaphdecha S, Pepey E, Coriton O, Coutanceau JP, D'Hont A, Kocher TD, Ozouf C, Baroiller JF and D'Cotta H. 2008. Microdissection and DOP-PCR as a way to study the evolution of an old sex chromosome pair using 2 sister-species of tilapia with different sex determination systems, *O. aureus* and *O. niloticus*. Sexual Development, 2: 286.

D'Cotta H, Pepey E, Wessels S, **Poonlaphdecha S**, Reinelt B, Horstgen-Schwark G, Baroiller JF. 2008. Temperature-induced male differentiation in the Nile Tilapia: gonad gene expression using female monosex populations and divergent thermo-sensitive lines. Sexual development, 2: 281.

Poonlaphdecha S. 2009. Development and validation of selection markers for tilapia *Oreochromis niloticus* lines to produce monosex male populations by respecting the consumer and by environmentally friendly approaches. Printemps de Baillarguet 20 March 2009. Présentations scientifiques des pré-, post- et doctorants. Culture du Monde à Baillarguet, Montpellier, France.

Poonlaphdecha S. 2009. Contrôle du sexe chez les tilapias: développement et validation de marqueurs / Sex Control in Tilapias: Development and Validation of Markers. Les rencontres du Cirad 2009 Plénière Persyst, 25-26 août 2009, Montpellier, France.

Poonlaphdecha S, Pepey E, Huang SH, Canonne M, Soler L, Mortaji S, Morand S, Pfennig F, Mélard C, Baroiller JF, D'Cotta H. Elevated *amh* Gene Expression in the Brain of Male Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during Testis Differentiation. Sexual development, 5:33-47.

Poonlaphdecha S., Thalerngkiet-leela T. and Sirimongkonhaworn R. 2012. Summer quality in Nong Prajak, Nong Bua and Nong Sim lakes, Udon Thani, Thailand. Proceeding of the 1st

- International Conference on Animal Nutrition and Environment. September 14–15, 2012, Khon Kaen, Thailand.
- Choumsang, R., D. Kijkosol, **S. Poonlaphdecha**, S. Pruangka, T. Thalerngkietleela, and S. Kotamee. 2012. Effect of stocking density on growth and survival of Lanchester's Freshwater Prawn (*Macrobrachium lanchesteri* de Man). Proceeding of the 1st International Conference on Animal Nutrition and Environment. September 14–15, 2012, Khon Kaen, Thailand. 1: 204.
- S. Poonlaphdecha**, W. Insiri, S. Ketphaeng, T. Thalerngkietleela, R. Sirimongkonthaworn. 2012. Streptococcosis in Freshwater Fish in Nong Prajak and Nong Bua Lakes, Udon Thani, Thailand. Proceeding of the 4th International Science, Social Science, Engineering and Energy Conference. December 11–14, 2012, Golden Beach Cha-Am Hotel, Patchburi, Thailand.
- Poonlaphdecha S**, Pepey E, Canonne M, de Verdal H, Baroiller JF, D'Cotta H. 2013. Temperature induced-masculinization in the Nile tilapia causes rapid up-regulation of both *dmrt1* and *amh* expressions. Submitted to General and Comparative Endocrinology.
- Srisupaph Poonlaphdecha**, Amphha Wanta, Surutai Yoraban, Pean Singjanusong, Alexis Ribas. 2014. Isolation of new bacteria from reared frogs (*Haplobatrachus rugulosus*) in Udon Thani province. Khon Kaen Agr. J., 42 (suppl.4): 144–147.
- Thanunya Theangthum, Apinya Wangkeeree, Pean Singjanusong, **Srisupaph Poonlaphdecha**, Alexis Ribas. 2014. Color pattern variation on two species of wild frogs in North East of Thailand. Khon Kaen Agr. J., 42 (suppl.4): 148–150.

ผู้วิจัยร่วม

- | | | |
|----|-----------------------------|--------------------------------------|
| 1. | ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) | นายทวีป คำแพงเมือง |
| | ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) | Mr.Thaweeep KHAMPEANGMUANG |
| 2. | เลขหมายบัตรข้าราชการพลเรือน | 386/2553 |
| 3. | ตำแหน่งปัจจุบัน | เจ้าพนักงานป่าไม้อาวุโส |
| 4. | หน่วยงาน | เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จ.บึงกาฬ |