

การศึกษาชีววิทยาการเจริญของอึ่งปากขวด (*Glyphoglossus molossus* Günther, 1869) เพื่อเป็นต้นแบบการเพาะเลี้ยง

The Study on Developmental Biology of Truncate-snouted Burrowing Frog (*Glyphoglossus molossus* Günther, 1869) for Rearing System Model

ไกรฤกษ์ ทวีเชื้อ^{1*} วุฒิชัย ฤทธิ¹ บุญสนอง ช่วยแก้ว¹ สมิตานันท์ จันทะบุรี¹ ดำรงค์ศักดิ์ อาลัย²
และญาณพัฒน์ พรหมประสิทธิ์¹

Krailerk Taweechue^{1*}, Wuttichai Ritti¹, Boonsanong Chuaykaew¹,
Sumitahnun Chunthaburee¹, Damrongsak Arlai² and Yanaphat Promprasith¹

บทคัดย่อ

อึ่งปากขวด (*Glyphoglossus molossus* Günther, 1869) เป็นสัตว์ที่นอกจากมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศแล้วยังมีความสำคัญด้านเป็นอาหารของมนุษย์ ปัจจุบันอึ่งปากขวดมีจำนวนลดลงเนื่องจากการถูกจับมาบริโภคและสภาพถิ่นที่อยู่อาศัยเปลี่ยนไป อย่างไรก็ตามมีรายงานข้อมูลทางด้านชีววิทยาของสัตว์ชนิดนี้น้อย การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชีววิทยาการเจริญของอึ่งปากขวดในระยะเอ็มบริโอ ระยะลูกอ๊อด (tadpole) และระยะลูกอึ่ง (froglet) เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการเพาะเลี้ยงในสภาพเลียนแบบธรรมชาติและเป็นต้นแบบในการพัฒนาเป็นสัตว์เศรษฐกิจ ผลการทดลองพบว่าพัฒนาการของอึ่งปากขวดระยะเอ็มบริโอในสภาพเพาะเลี้ยงเลียนแบบธรรมชาติเป็นไปตามกระบวนการเจริญเติบโตของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก โดยเอ็มบริโอมีการเจริญและสามารถเกาะเกาะออกจากเยื่อหุ้มเป็นอึ่งปากขวดระยะลูกอ๊อดภายในประมาณ 24 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ลูกอ๊อดมีลักษณะสีและรูปร่างที่เป็นลักษณะเฉพาะชนิด และสามารถเจริญเป็นอึ่งปากขวดระยะลูกอึ่งใช้เวลาประมาณ 25-30 วัน มีขนาดตัวยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ผิวลำตัวสีน้ำตาลเข้มแต่มีแถบสีน้ำตาลที่จางกว่าพาดลำตัวด้านบน (dorsal) ที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะของแต่ละตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ยจากจำนวน 100 ตัวเท่ากับ 0.19 กรัม และเพิ่มขึ้นเป็น 4.14 11.10 22.00 และ 23.62 กรัม เมื่ออายุ 45 90 135 และ 180 วัน ตามลำดับ ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ข้อมูลนี้จึงเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาด้อยอดในการเพาะพันธุ์อึ่งปากขวดเพื่อการบริโภคหรือใช้ในเชิงพาณิชย์ได้

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

² สาขาวิชาสัตวบาล คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

* Corresponding author e-mail: tkrailerk@yahoo.com

DOI: <https://doi.org/10.65217/wichchajinstru.2023.v42i1.255203>

Received: 12 July 2022, Revised: 10 January 2023, Accepted: 31 January 2023

คำสำคัญ: อึ่งปากขวด การเจริญ เอ็มบริโอ ลูกอ๊อด ลูกอึ่ง

Abstract

The truncate-snouted burrowing frog (*Glyphoglossus molossus* Günther, 1869) plays an important role in the ecosystem and food source for humans. However, their number is decreasing due to over-harvest and severe habitat loss. However, the biological report of this animal species has been little known. The aims of this research were to study the developmental biology of the embryo, tadpole, and froglet stages. The obtained data from this research were needed for rearing this animal under the simulated natural condition and applying it as an economic animal. The results showed that adult male and female breeding could be accomplished in captivity. Embryo development followed the normal process of amphibian development. Embryo developed and hatched from the membrane into the tadpole stage within 24 hours after fertilization. The truncate-snouted burrowing frog tadpoles showed unique colors and shape. They took about 25-30 days to develop into a froglet stage. The early froglets were approximately 1 centimeter long. The skin was dark brown with individual unique light brown stripes on their bodies. The body weight mean of 100 individuals was 0.19 grams and increased to 4.14, 11.10, 22.00 and 23.62 grams at 45, 90, 135 and 180 days of age, representing a statistically significant difference in weight gain ($p < 0.05$). The study could be further applied in rearing the truncate-snouted burrowing frog for consumption or commercial uses.

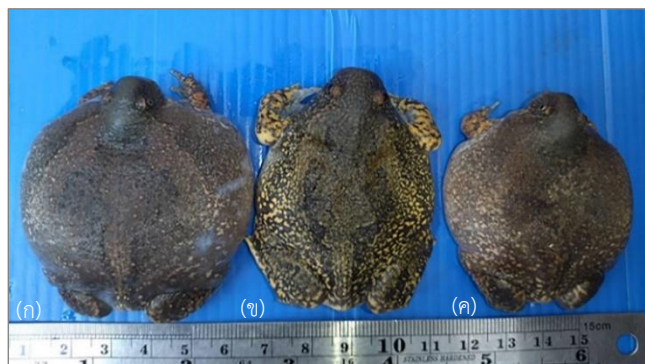
Keywords: Truncate-snouted burrowing frog, Development, Embryo, Tadpole, Froglet

บทนำ

อึ่งปากขวด (*Glyphoglossus molossus* Günther, 1869) หรือบางท้องถิ่นที่มีชื่อเรียกต่างออกไป เช่น อึ่งปากกระโดน อึ่งเพ้า อึ่งเค้า และอึ่งโกรก เป็นต้น เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่นอกจากจะบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ทางระบบนิเวศแล้ว ยังเป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยมีการนำมาบริโภคตั้งแต่อดีตโดยเฉพาะในภาคเหนือและภาคอีสานของประเทศไทย อึ่งปากขวดมีลำตัวอ้วน ลำตัวสีดำหรือสีเทา มีจุดสีเหลือง ขนาดเล็กกระจายทั่วทั้งตัว ขาสั้น หัวสั้น หน้าสั้น ปากแคบทุและหนา ปากไม่ยื่นออกมาเหมือนกบ ส่วนของเยื่อช่องหู (tympanum) มองเห็นไม่ชัดเจน ระหว่างนิ้วเท้ามีแผ่นหนังทั้งเท้าหน้าและเท้าหลัง ความยาวจากปลายจมูกถึงรูกัน (snout vent length: SVL) ของตัวเต็มวัยประมาณ 70 มิลลิเมตร (นวพรรัช และณภักซ์, 2558) นอกจากนั้นในการศึกษาของ Laojumpon *et al.* (2012) ให้ข้อมูลละเอียดยิ่งขึ้นในส่วนของคุณลักษณะความยาวจากปลายจมูกถึงรูกันซึ่งพบว่าน้อยกว่ารายงานข้างต้นเล็กน้อย นั่นคือตัวอย่างที่เก็บจากภาคเหนือ

ภาคกลาง และภาคอีสานของประเทศไทย จำนวนรวม 297 ตัวอย่าง ค่าเฉลี่ยความยาวดังกล่าวในเพศเมียเต็มวัยมากที่สุดเท่ากับ 66.03 มิลลิเมตร โดยเป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากภาคเหนือของประเทศไทย ส่วนเพศผู้เต็มวัยค่าความยาวนี้เท่ากับ 63.48 มิลลิเมตร โดยเป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากภาคกลางของประเทศไทย

อึ่งปากขวดเพศผู้และเพศเมียมีลักษณะคล้ายกันแต่เพศผู้มีสีที่เด่นชัดกว่า โดยเฉพาะจุดสีเหลืองหรือสีส้มที่กระจายบนผิวหนังตัวและขา เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าและในฤดูผสมพันธุ์มีไข่ที่พร้อมผสม (ภาพที่ 1) นอกจากลักษณะความเด่นชัดของจุดสีและขนาดตัวที่ต่างกันแล้ว ถุงลม (vocal sac) เป็นอีกลักษณะที่ใช้แยกความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมีย (Laojumpon *et al.* 2012) โดยถุงลมนี้นพบได้ในเฉพาะเพศผู้เท่านั้น เพศผู้ใช้ถุงลมนี้นช่วยในการขยายเสียงให้ก้องและไกลเพื่อดึงดูดเพศเมีย จึงเป็นที่มาของชื่อในบางพื้นที่ซึ่งเรียกอึ่งชนิดนี้ว่าอึ่งโกรกตามเสียงร้องที่คนได้ยิน



ภาพที่ 1 ลักษณะอึ่งปากขวดเพศเมีย (ก และ ค) มีจุดสีเหลืองหรือสีส้มที่ผิวหนังตัวและขาจางกว่าเพศผู้ (ข) ซึ่งมีลักษณะของจุดสีเหลืองหรือสีส้มที่ผิวหนังตัวและขาที่ชัดเจนกว่า

อึ่งปากขวดแพร่กระจายในประเทศกัมพูชา ลาว พม่า เวียดนาม และไทย (Nonsrirach and Lauprasert, 2019) โดยในประเทศไทยสามารถพบได้ทุกภาคยกเว้นภาคใต้ตอนล่าง อาศัยอยู่ตามโพรงดินที่เป็นดินทรายร่วนในบริเวณป่าเต็งรัง ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายนซึ่งเป็นช่วงฝนตกหนักครั้งแรกอึ่งปากขวดจะขึ้นมาจากใต้ดินเพื่อมาผสมพันธุ์ วางไข่ และออกหากินในช่วงเวลากลางคืน จึงเป็นโอกาสของชาวบ้านจับมาประกอบอาหาร ตามที่สัตว์ชนิดนี้ใช้ชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในโพรงดิน การพบเห็นอึ่งปากขวดจึงเป็นสิ่งที่ยากทำให้ข้อมูลชีววิทยาของสัตว์ชนิดนี้ยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด (Altig and Rowley, 2014; Nonsrirach and Lauprasert, 2019) ปัจจุบันอึ่งปากขวดในธรรมชาติมีจำนวนลดลง เพราะถูกจับมาเพื่อจำหน่ายและบริโภคเป็นอาหารในแต่ละปีเป็นจำนวนมาก (ธเนศ, 2562) แม้สถานภาพปัจจุบันของอึ่งปากขวดไม่ได้ถูกจัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองตามพระราชบัญญัติสงวนและสัตว์ป่าคุ้มครอง พ.ศ. 2562 แต่องค์กร The International Union for Conservation of Nature's Red List of Threatened Species (IUCN: version 3) จัดให้อึ่งปากขวดอยู่ในกลุ่มสัตว์ที่จำนวนลดลงและเสี่ยงใกล้ถูกคุกคาม (near threatened: NT) (The IUCN Red List of Threatened Species, 2022)

คณะนักวิจัยเห็นว่าอึ่งปากขวดน่าจะสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อพัฒนาเป็นสัตว์เศรษฐกิจ จำหน่ายเป็นรายได้ทั้งหลักและเสริมได้ในรูปแบบของการนำไปประกอบอาหารที่ใช้วัตถุดิบในท้องถิ่น ที่มีอัตลักษณ์ดังเช่นในกรณีของปลาร้าจากจังหวัดพัทลุง สงขลา และนครศรีธรรมราช (ยุทนา และอมรรัตน์, 2555) และกึ่งก้ามกรามบางแพ (ชฎาพร และนภธีรา, 2565) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การสร้างองค์ความรู้ด้านชีววิทยาการเจริญและการเลี้ยงลูกอึ่งเป็นความจำเป็นเร่งด่วนเพื่อใช้ข้อมูล พื้นฐานมาช่วยส่งเสริมการประกอบอาชีพให้กับชาวบ้านในรูปแบบของการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์เพื่อ สร้างรายได้ นอกจากนี้ยังได้ข้อมูลสำหรับการจัดการอนุรักษ์อึ่งปากขวดให้คงอยู่ในระบบนิเวศ ตลอดไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชีววิทยาการเจริญของอึ่งปากขวดในระยะ เอ็มบริโอ ระยะลูกอ๊อด และระยะลูกอึ่ง เพื่อเป็นข้อมูลต่อยอดในการพัฒนาให้อึ่งปากขวดสามารถ เพาะเลี้ยงในสภาพคอกเพาะเลี้ยงเลียนแบบธรรมชาติให้เป็นระบบต้นแบบในการพัฒนาเป็นสัตว์ เศรษฐกิจต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สัตว์ทดลองและการจัดให้ผสมพันธุ์

แหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์อึ่งปากขวดและสถานที่ทำการวิจัย คือ ตำบลต้อม อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา ทำการทดลองระหว่างเดือนเมษายนถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2564 การวิจัยครั้งนี้ใช้ พ่อแม่พันธุ์อึ่งปากขวดจำนวน 3 คู่ เป็นพ่อแม่พันธุ์ที่สมบูรณ์แข็งแรง (ภาพที่ 2 ก และ ข) ไม่มีการใช้ สารกระตุ้นการเจริญเติบโตของระบบสืบพันธุ์ใด ๆ นำมาปรับสภาพในบ่อทรายก่อนการผสมพันธุ์ ดำเนินการจัดให้มีการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติในบ่อซีเมนต์กลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 120 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร ใส่ น้ำสะอาดไว้ปริมาตร 0.23 ลูกบาศก์เมตร (ภาพที่ 2 ค) ทำการปล่อย พ่อแม่พันธุ์ลงไปบ่อละ 1-2 คู่ พร้อมเปิดน้ำจากสปริงเกอร์ เปิดเสียงร้องของอึ่งปากขวดเพื่อเลียนแบบ สภาพให้คล้ายธรรมชาติ ปล่อยให้พ่อแม่พันธุ์ผสมพันธุ์กันโดยไม่รบกวนตราบใดที่พ่อแม่พันธุ์ยังแสดง พฤติกรรมซีหลังเพศเมีย (copulation) ภายหลังเห็นการปล่อยไข่ของเพศเมีย จึงทำการแยกพ่อแม่พันธุ์ ออกจากบ่อ



ภาพที่ 2 พ่อแม่พันธุ์อึ่งปากขวดที่ใช้ในการทดลอง: พ่อพันธุ์ (ก) แม่พันธุ์ (ข) และบ่อผสมพันธุ์ (ค)

2. การศึกษาพัฒนาการของอึ่งปากขวดระยะเอ็มบริโอ

ภายหลังการผสมพันธุ์ใช้ปิเปตแก้ว (pasture pipette) ดูดเก็บตัวอย่างอึ่งปากขวดระยะเอ็มบริโอจำนวน 20 เอ็มบริโอ ทุกชั่วโมง จนกระทั่งกะเทาะออกจากเยื่อหุ้ม ตัวอย่างถูกเก็บในหลอดขนาด 15 มิลลิลิตรที่บรรจุ 10 เปอร์เซ็นต์ฟอร์มาลินรักษาสภาพเพื่อนำมาศึกษาขั้นตอนการเจริญเติบโตโดยใช้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอและชุดบันทึกภาพ (Leica Application Suite LAS 4.7) ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

3. การเลี้ยงและศึกษาการเจริญเติบโตของอึ่งปากขวดระยะลูกอ๊อด

อึ่งปากขวดระยะเอ็มบริโอถูกเลี้ยงในบ่อผสมพันธุ์จนพัฒนาสามารถกะเทาะออกจากเยื่อหุ้มกลายเป็นอึ่งปากขวดระยะลูกอ๊อด ช่วง 3 วันแรกยังมีไข่แดง (yolk) ในตัวจึงไม่จำเป็นต้องให้อาหารใด ๆ จนกระทั่งวันที่ 4 จะเริ่มให้อาหารปลาตุ๊กเล็กโดยนำมาคลุกน้ำแล้วปั่นให้จับกันเป็นก้อนให้วันละ 2 ครั้ง เวลา 09.00 น. และ 17.00 น. ปริมาณการให้สังเกตจากให้มีอาหารกินเหลือเพียงเล็กน้อยของการให้แต่ละครั้ง และเพิ่มตามอายุของลูกอ๊อด พร้อมทำการวัดและบันทึกอุณหภูมิน้ำในช่วงเวลาดังกล่าว (ทำการถ่ายน้ำออก 50 เปอร์เซ็นต์ ทุก ๆ 3 วัน ทำการบันทึกภาพและเก็บตัวอย่างศึกษาการเจริญเติบโตทุก ๆ 5 วัน จนกระทั่งอึ่งปากขวดระยะลูกอ๊อดสามารถเจริญเติบโตเป็นอึ่งปากขวดระยะลูกอึ่ง

4. การเลี้ยงและศึกษาการเจริญเติบโตของอึ่งปากขวดระยะลูกอึ่งถึงอายุ 180 วัน

อึ่งปากขวดระยะลูกอึ่งถูกเลี้ยงในบ่อซีเมนต์กลมขนาดเดิม ใส่ดินร่วนปนทรายลงไปให้สูงขึ้นมา 30 เซนติเมตร ด้านบนถูกคลุมด้วยทรายและฟางข้าวสับเพื่อรักษาความชื้นในดินจำนวน 3 บ่อ บ่อละ 300 ตัว ในระยะนี้อาหารที่ให้คือปลวก (*Macrotermes* sp.) (ให้วันละ 2 ครั้ง เวลา 09.00 น. และ 17.00 น.) ร่วมกับการให้อาหารเองตามธรรมชาติจากอาหารที่หาได้ในบ่อเลี้ยง เช่น กิ้งกือ ไส้เดือน และมด เป็นต้น ทำการบันทึกภาพ สังเกตลักษณะ และสูบน้ำหนักจำนวน 100 ตัว จากทุกบ่อจำนวน 5 ครั้ง ได้แก่ อายุ 1 45 90 135 และ 180 วัน

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์น้ำหนักโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาและวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักเฉลี่ยตามอายุโดยใช้วิธีเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม SPSS (Duncan, 1955)

6. จริยธรรมการวิจัยในสัตว์

การวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินการขอและอนุญาตให้ดำเนินการวิจัยในสัตว์ทดลอง เลขที่ใบอนุญาต IACUC PBRU 080763012

ผลการวิจัย

1. การทดลองจัดให้อึ่งปากขวดผสมพันธุ์ ศึกษาการเจริญเติบโตของอึ่งปากขวดระยะเอ็มบริโอ และเพาะเลี้ยงอึ่งปากขวดระยะลูกอ๊อด

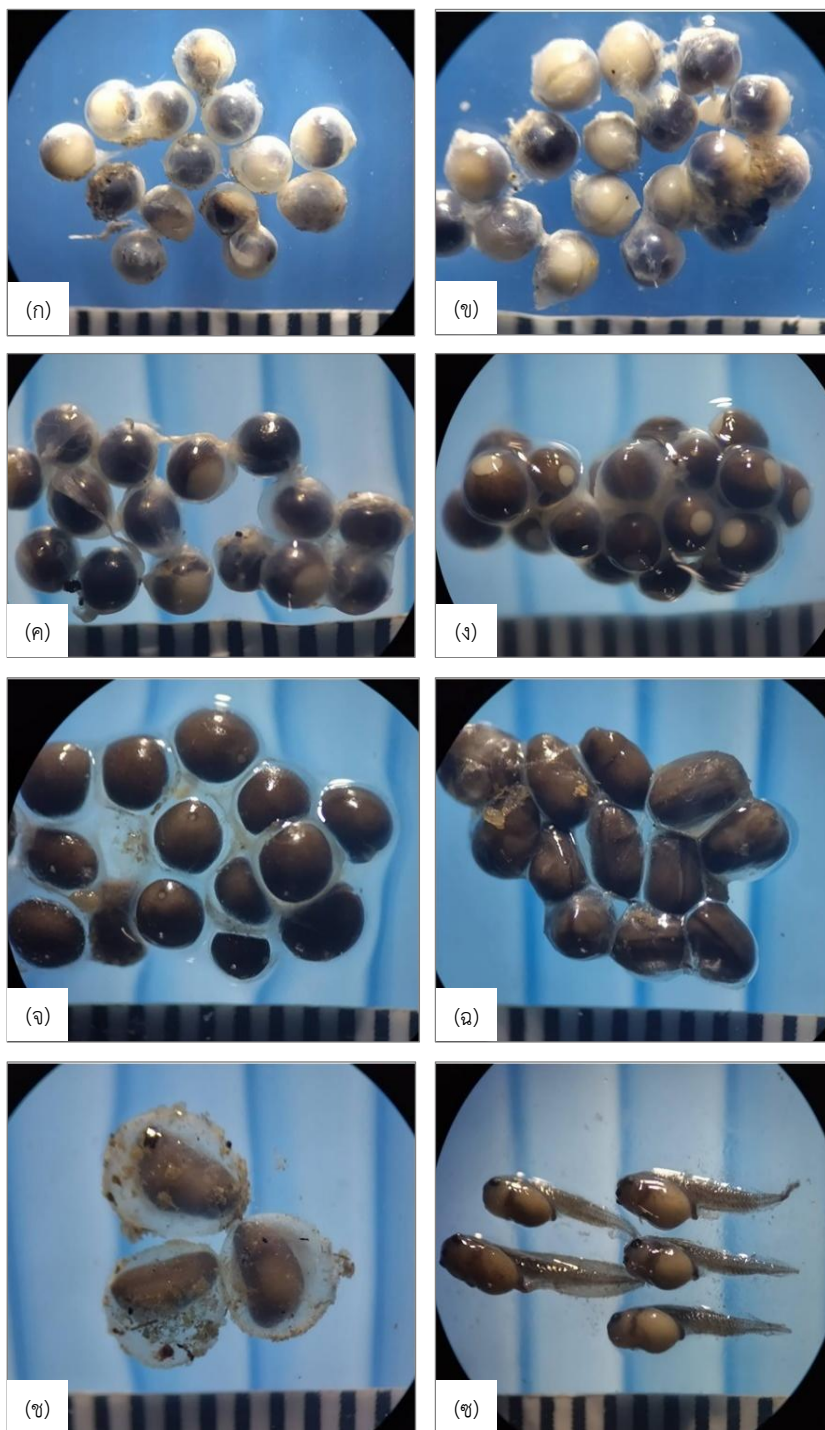
การศึกษาครั้งนี้พบว่าสามารถจัดให้มีการผสมพันธุ์อึ่งปากขวดเลียนแบบธรรมชาติได้โดยการใส่อึ่งปากขวดเพศผู้และเพศเมียที่มีไข่ในท้องเจริญเต็มที่ไว้ด้วยกันในบ่อซีเมนต์ที่ใส่น้ำปริมาตร 0.23 ลูกบาศก์เมตร อุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 27-28 องศาเซลเซียส อึ่งปากขวดเพศผู้แสดงพฤติกรรม

พองตัว (ภาพที่ 3 ก) และส่งเสียงร้องเพื่อดึงดูดอึ่งปากขวดเพศเมียและมีพฤติกรรมการเข้าคู่กัน โดยเพศผู้อยู่ด้านบน (ภาพที่ 3 ข) เพศเมียทำการปล่อยไข่ และเพศผู้ปล่อยน้ำเชื้อออกมาผสม ลักษณะของไข่ที่ปล่อยออกมาลอยเป็นแพ ด้านบนคล้ำกว่าด้านล่าง มีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร (ภาพที่ 4 ก) ลูกอ๊อดมีพัฒนาการจนฟักออกมาเป็นตัวภายใน 24 ชั่วโมงหลังการผสมพันธุ์



ภาพที่ 3 อึ่งปากขวดเพศผู้แสดงพฤติกรรมพองตัวและส่งเสียงร้องเพื่อดึงดูดเพศเมีย (ก) และ มีพฤติกรรมการเข้าคู่กัน โดยเพศผู้อยู่ด้านบนเพศเมีย (ข)

ผลจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอพบว่าหลังการผสมพันธุ์ชั่วโมงที่ 1 เห็นลักษณะของด้านบน (animal pole) ของไข่เป็นสีดำและด้านล่าง (vegetal pole) เป็นสีขาว ดังภาพที่ 4 (ก) ในชั่วโมงที่ 2 พบการแบ่งเซลล์ลงทางด้านล่างอย่างชัดเจน ดังภาพที่ 4 (ข) การคลุมตัว (epiboly) ของเซลล์ด้านบนลงมาด้านล่างเห็นได้เด่นชัดในชั่วโมงที่ 7 (ภาพที่ 4 ค) และดำเนินเรื่อย ๆ ถึงชั่วโมงที่ 10 (ภาพที่ 4 ง) และคลุมเกือบหมดในชั่วโมงที่ 12 (ภาพที่ 4 จ) ดังที่ปรากฏส่วนของ yolk plug ให้เห็นเพียงเล็กน้อย ในชั่วโมงที่ 18 อึ่งปากขวดระยะเอ็มบริโอมีการปรับรูปร่างจากทรงกลมเป็นทรงรีคล้ายรูปไข่ และเห็นส่วนของ neural groove อย่างชัดเจน ดังภาพที่ 4 (ฉ) ในชั่วโมงที่ 20 เอ็มบริโอมีลักษณะคล้ายลูกอ๊อดมากขึ้น สามารถจำแนกส่วนหน้า (anterior) ส่วนท้าย (posterior) ส่วนบน (dorsal) และส่วนท้องได้ค่อนข้างชัดเจนโดยที่ระยะเอ็มบริโอยังคงอยู่ในเยื่อหุ้ม ดังภาพที่ 4 (ซ) ในชั่วโมงที่ 24 หลังการผสมพันธุ์มีการเจริญเติบโตเป็นอึ่งปากขวดระยะลูกอ๊อดที่สามารถเกาะเกาะ (hatching) ออกมาจากเยื่อหุ้ม ลูกอ๊อดมีสีดำคล้ำ ส่วนลำตัวกลมส่วนหางยาว มีครีบสำหรับว่ายน้ำ และอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ดังภาพที่ 4 (ซ)



ภาพที่ 4 การเจริญเติบโตของอึ่งปากขอระยะเอ็มบริโอ โดยเลือกจากชั่วโมงที่มีลักษณะพัฒนาการที่เด่นชัดในชั่วโมงที่ 1 (ก) ชั่วโมงที่ 2 (ข) ชั่วโมงที่ 7 (ค) ชั่วโมงที่ 10 (ง) ชั่วโมงที่ 12 (จ) ชั่วโมงที่ 18 (ฉ) ชั่วโมงที่ 20 (ช) และชั่วโมงที่ 24 (ซ) หลังการผสมพันธุ์

ลูกอ๊อดอึ่งปากขวดที่เพิ่งเกาะเกาะออกจากเยื่อหุ้ม มีขนาดความยาวจากหัวถึงหางเฉลี่ย 100 ตัวเท่ากับ 5.7 มิลลิเมตร (ภาพที่ 4 ข) ยังคงมีไข่แดงที่หน้าท้องและจะลดลงเรื่อย ๆ ในวันต่อมา ในระยะนี้คณะผู้วิจัยไม่ให้อาหารแต่อย่างใด การทดลองให้อาหารปลาตุ๊กเล็กชนิดเม็ดแช่น้ำเป็น ก้อนกลมขนาดประมาณ 3 กรัม ในวันที่ 4 พบว่าลูกอ๊อดกินอาหารที่ให้ได้ดี มีการรุมกินอาหาร ที่ให้จนหมด การเจริญเติบโตของลูกอ๊อดดำเนินไปพร้อมกับเห็นความเปลี่ยนแปลง นั่นคือลูกอ๊อด มีขนาดใหญ่และยาวขึ้น ลำตัวส่วนบนและครีบหางปรากฏเป็นแถบสีน้ำตาลไปจรดปลายหาง ในวันที่ 5 และ 10 ขนาดความยาวจากหัวถึงหางเฉลี่ย 100 ตัว เท่ากับ 8.7 และ 20.5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 5 ค และ ง) ตามลำดับ ในวันที่ 10 ลูกอ๊อดเริ่มมีการเจริญของขาหลัง (ภาพที่ 5 ง) และเห็นได้อย่างชัดเจน ในวันที่ 15 และพบการเจริญของปมขาหน้าด้วย (ภาพที่ 5 จ)

ในวันที่ 20 ของการเจริญเติบโตของลูกอ๊อดมีขนาดความยาวจากหัวถึงหางเฉลี่ย 100 ตัวเท่ากับ 30.3 มิลลิเมตร แถบสีน้ำตาลที่ลำตัวส่วนบนและครีบบังปรากฏชัดเจน เมื่อถึงระยะนี้ จะเห็นได้ชัดว่าการเจริญของลูกอ๊อดแต่ละตัวไม่เท่ากันแต่เป็นลักษณะของการเจริญไล่ ๆ กัน ลักษณะเด่นชัดที่พบในระยะนี้ คือ ถ้ามองจากด้านบนจะเห็นหัวเป็นรูปสามเหลี่ยม และมีการเจริญของขาหน้า และเห็นได้ชัดเจน ถ้าจับขึ้นมาจากน้ำวางบนวัสดุที่เป็นฉากถ่ายภาพบางตัวสามารถยืนโดยใช้ขาทั้งสี่ข้าง นอกจากนั้นบางตัวที่มีการเจริญไว ส่วนเอวจะคอดลง เผยให้เห็นส่วนขาหลังอย่างชัดเจน ตัวที่เจริญได้ช้ากว่าส่วนเอวยังคงไม่เว้าคอด ดังภาพที่ 5 ฉ

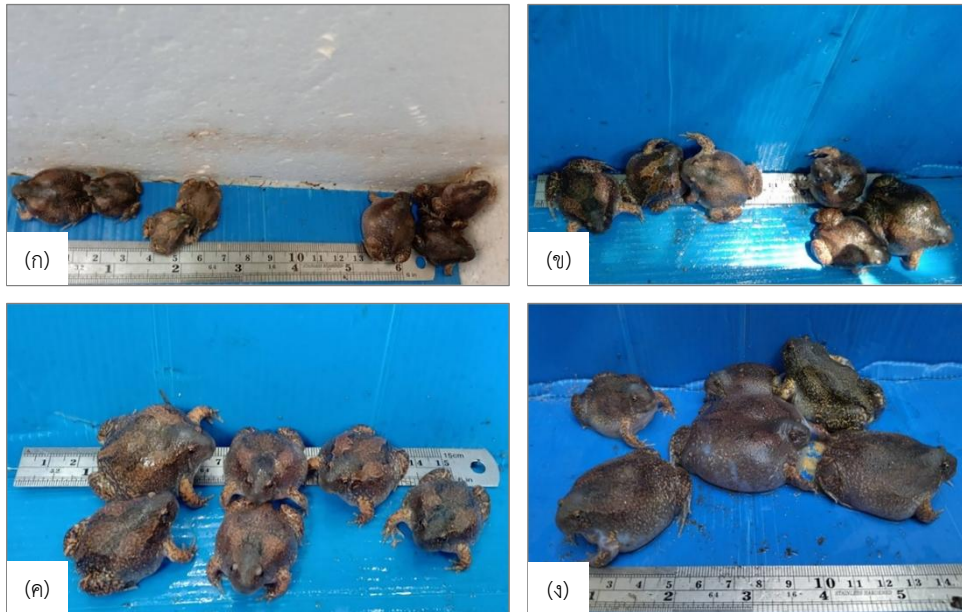
ในวันที่ 25 ของการเจริญเติบโตของลูกอ๊อดมีการเจริญไปเป็นลูกอึ่ง (froglet) ลักษณะที่เด่นชัด คือ ส่วนหางสลายไปแต่ยังไม่ทั้งหมด มีขนาดความยาวจากหัวถึงหางประมาณ 1 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 100 ตัวเท่ากับ 0.19 กรัม ลักษณะคล้ายกับตัวเต็มวัยแต่มีขนาดเล็กกว่า ลำตัวปรากฏลายพาดไปจากหัวไปส่วนท้ายของลำตัว โดยแต่ละตัวมีลายพาดนี้เป็นแบบเฉพาะตัว ดังภาพที่ 5 (ซ) นอกจากนั้นยังพบว่าระยะนี้ลูกอึ่งเริ่มขึ้นจากน้ำขึ้นมาหากินบนบก เมื่ออายุได้ 10 วัน (หลังจากเป็นระยะลูกอึ่ง) หางของลูกอึ่งปากขวดวัยอ่อนจะสลายไปหมด สามารถปรับตัวหากินปลวกได้ ดังภาพที่ 5 (ซ)

2. การเลี้ยงและศึกษาการเจริญเติบโตของอึ่งปากขวดระยะลูกอ๊อด

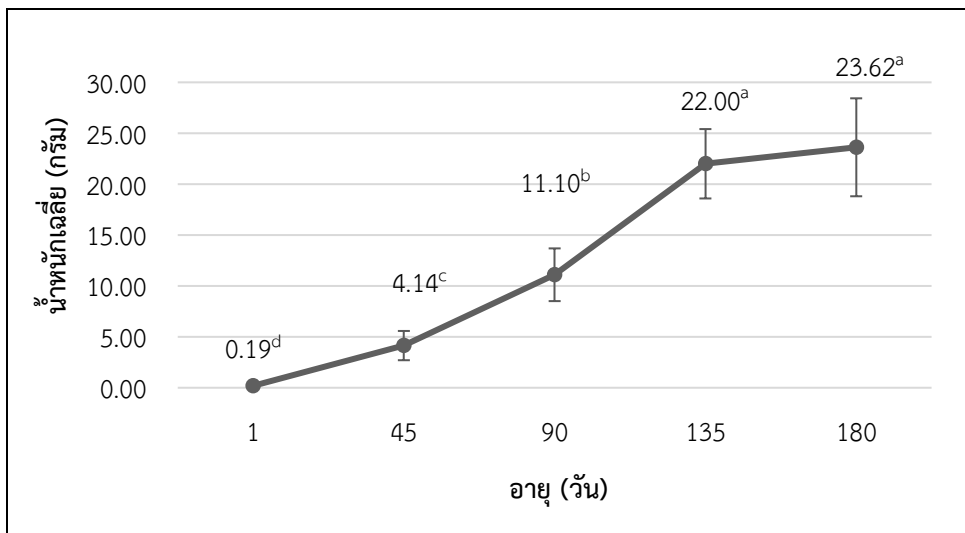
การศึกษาการเจริญเติบโตต่อเนื่องของอึ่งปากขวดระยะลูกอ๊อดที่อายุ 45 90 135 และ 180 วัน (ภาพที่ 6 ก ข ค และ ง ตามลำดับ) พบว่าอึ่งปากขวดระยะลูกอึ่งมีลักษณะเหมือนอึ่งปากขวดตัวเต็มวัยเพียงแต่ขนาดเล็กกว่า ผิวหนังด้านบนมีแถบสีน้ำตาลสามแถบและมีรูปแบบการพาดของแถบเฉพาะตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่ออายุ 1 45 90 135 และ 180 วัน (ภาพที่ 7) จากการชั่งจำนวน 100 ตัว เท่ากับ 0.19 4.14 11.10 22.00 และ 23.62 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักของแต่ละตัวมีความแปรผัน มีตัวที่เติบโตไวช้าไม่เท่ากันทุกช่วงอายุ และเมื่อเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 180 วัน พบตัวที่มีน้ำหนักตัวมากที่สุด คือ 32.07 กรัม ส่วนตัวที่มีน้ำหนักน้อยที่สุด คือ 15.89 กรัมเท่านั้น นอกจากนั้นช่วงอึ่งปากขวดที่อายุ 180 วันนี้ มีความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างเพศผู้และเพศเมีย



ภาพที่ 5 การอนุบาลลูกอึ่งปากขวดตั้งแต่การผสมพันธุ์ถึงระยะลูกอึ่ง: ไข่ของอึ่งปากขวด (ก) ลูกอ๊อดที่ถูกเลี้ยงในบ่อกลมพร้อมภาพขยายแสดงในมุมมองบน (ข) ลูกอ๊อดอายุ 5 วัน (ค) ลูกอ๊อดอายุ 10 วัน ลูกศรภาพขวาบนแสดงปุ่มขาหลัง (ง) ลูกอ๊อดอายุ 15 วัน ลูกศรภาพขวาบนแสดงปุ่มขาหน้า (จ) ลูกอ๊อดอายุ 20 วัน (ฉ) ลูกอ๊อดอายุ 25 วัน (ช) และลูกอึ่งอายุ 10 วันที่กำลังกินปลวก (ซ)



ภาพที่ 6 ลักษณะของอึ่งปากขวดอายุ 45 วัน (ก) 90 วัน (ข) 135 วัน (ค) และ 180 วัน (ง)



ภาพที่ 7 น้ำหนักที่ต่อเนื่องของอึ่งปากขวดช่วงอายุ 1 45 90 135 และ 180 วัน

หมายเหตุ: - อักษรที่ต่างกันบนน้ำหนักเฉลี่ยของแต่ละช่วงอายุแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การอภิปรายผลการวิจัย

อึ่งปากขวดเป็นที่รู้จักกันดีในภาคเหนือและภาคอีสานของประเทศไทยในการนำมาเป็นอาหารเมนูพื้นบ้านที่เป็นที่นิยมทั้งในอดีตและปัจจุบัน และมีแนวโน้มในการนำมาบริโภคมากขึ้นในอนาคตจนอาจต้องทำการเพาะเลี้ยงเพื่อให้มีจำนวนมากพอ อย่างไรก็ตามการศึกษาชีววิทยาของ

สัตว์ชนิดนี้ยังมีค่อนข้างน้อย โดยชีววิทยาบางประการของสัตว์ชนิดนี้ยังคงรับรู้ในวงจำกัด เช่น การเพาะเลี้ยงในสถานที่กักขัง ลักษณะชีววิทยาการเจริญช่วงลูกอ๊อดและลูกอึ่ง อาหารและการเจริญเติบโต รวมถึงการดำรงชีวิตจนถึงระยะเจริญพันธุ์ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการเจริญเติบโตของอึ่งปากขวด ตั้งแต่พฤติกรรมการผสมพันธุ์จนได้เป็นลูกอึ่งเพื่อเป็นองค์ความรู้ด้านพัฒนาการการเจริญเติบโตระยะ ลูกอ๊อดและลูกอึ่งเพื่อเป็นข้อมูลรองรับการเพาะเลี้ยง คณะผู้วิจัยได้ติดตามการพัฒนาดังต่อไปนี้ ตั้งแต่การผสมพันธุ์จนกระทั่งเจริญเติบโตเป็นอึ่งปากขวดตัวเต็มวัยอายุ 180 วัน หลังจากไข่อึ่งปากขวด ได้รับการผสมแล้วจะมีการเจริญตามกระบวนการ embryogenesis รูปแบบของการเจริญเติบโตเป็นไปตามการเจริญเติบโตของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่เคยมีการศึกษาก่อนหน้านี้ (del Pino *et al.*, 2004; Sayim and Kaya, 2008; Xiong *et al.*, 2010) สิ่งที่แตกต่างกัน คือ ระยะเวลาที่ใช้เจริญเติบโตแต่ละระยะ

การวิจัยด้านชีววิทยาการเจริญเติบโตของอึ่งปากขวดยังคงมีน้อย ดังนั้นการวิจัยเพื่อเพิ่มองค์ความรู้ยังคงเป็นสิ่งจำเป็น รายงานวิจัยก่อนหน้านี้ของพนมเทียน (2554); สิริฉัตร และคณะ (2555) สามารถประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงอึ่งปากขวดซึ่งเป็นการบ่งชี้ว่าอึ่งปากขวดสามารถนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพเลียนแบบธรรมชาติได้ อย่างไรก็ตามการวิจัยครั้งนี้มีความแตกต่างบางประการกับการวิจัยข้างต้น ได้แก่ การศึกษาครั้งนี้เป็นการเพาะพันธุ์โดยไม่ได้ใช้สารเคมีใด ๆ กระตุ้นการเจริญพันธุ์ การใช้สารกระตุ้นการเจริญพันธุ์นิยมนำมาปฏิบัติในการเพาะพันธุ์ปลาหลากหลายชนิด เช่น ในกรณีการเพาะพันธุ์ปลาชุกวายเป็นดำ (สุริยะ, 2554) การเพาะพันธุ์ปลาไหล (ขจรเกียรติ และคณะ 2562) และการเพาะพันธุ์ปลาเสือตอลายเล็ก (กฤษฎา และสุพัฒน์, 2563) เป็นต้น การศึกษาการเพาะพันธุ์อึ่งปากขวดครั้งนี้ไม่มีการใช้สารกระตุ้น และสามารถเพาะพันธุ์ได้สำเร็จโดยมีข้อดี คือ เป็นวิธีการที่ง่ายที่สามารถนำไปสู่การปฏิบัติได้โดยชาวบ้าน นอกจากนั้นอาหารที่ใช้เลี้ยงในระยะลูกอ๊อดคือใช้อาหารปลาตุ๊กเล็กเพียงอย่างเดียวและการเลี้ยงทำในบ่อซีเมนต์กลมซึ่งวัสดุทั้งสองหาซื้อง่ายในท้องถิ่น ผลการวิจัยสามารถประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกัน และมีข้อดีด้านความง่ายในการปฏิบัติทั้งการเตรียมพ่อแม่พันธุ์ อุปกรณ์และอาหารที่ใช้

เอ็มบริโออึ่งปากขวดใช้เวลาหลังจากปฏิสนธิจนถึงการเจริญเป็นระยะแกสตรูลา (gastrula) ราว 7 ชั่วโมง ซึ่งถือได้ว่าเป็นการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว เมื่อเทียบกับไข่ของกบหูต (Limnonectes blythii) ที่มีการเจริญเติบโตหลังจากปฏิสนธิ 31 ชั่วโมง (โกมุท และคณะ, 2548) เส้น neural groove ในกระบวนการสร้างระบบประสาท (neurulation) ปรากฏในชั่วโมงที่ 16 เป็นสิ่งที่บ่งชี้ว่าการเจริญได้ผ่านระยะแกสตรูลา ซึ่งเป็นระยะที่มีการสร้างเนื้อเยื่อชั้นนอก (ectoderm) เนื้อเยื่อชั้นกลาง (mesoderm) และเนื้อเยื่อชั้นใน (endoderm) เรียบร้อยแล้ว และเนื้อเยื่อเหล่านี้จะเจริญไปเป็นอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย การเจริญของระบบประสาทของเอ็มบริโออึ่งปากขวดใช้เวลาใกล้เคียงกับกบนาตาม Trajitt *et al.* (2021) รายงานพัฒนาการในขั้น neurulation ของเอ็มบริโอกบนาไว้ว่า มีการเจริญของ neural folds ขึ้นทั้งสองด้าน และยกตัวขึ้นเคลื่อนที่เข้าหากัน และเป็น neural groove โดยเริ่มปรากฏเห็นในชั่วโมงที่ 14 หลังจากปฏิสนธิ และงานวิจัยของ Kuroshima and Tominaga (2021) ที่รายงานว่ามีการเจริญของกบต้นไม้ *Buergeria japonica* ในระยะ neurulation ใช้เวลา 16 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ

อึ่งปากขวดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีการแบ่งตัวจนสามารถเจริญและกะเทาะออกมาจากเยื่อหุ้มไข่ได้เป็นลูกอ๊อดใช้ระยะเวลาราว 24 ชั่วโมง ซึ่งถือได้ว่าการเจริญที่รวดเร็วกว่าเมื่อเทียบกับในกรณีของกบ *Xenopus laevis* ที่ใช้เวลา 48 ชั่วโมง กบ *Engystomops coloradorum* ใช้เวลา 96 ชั่วโมง (del Pino et al., 2007) ส่วนกบต้นไม้ (*Hyla arborea*) มีรายงานว่ามีการกะเทาะออกมาจากเยื่อหุ้มของลูกอ๊อดเกิดขึ้นในราว ๆ ชั่วโมงที่ 88-112 หลังการปฏิสนธิ (Sayim and Kaya, 2008) การเจริญที่รวดเร็วอาจเป็นผลมาจากไข่ของอึ่งปากขวดมีขนาดเล็กทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ภายในเซลล์เกิดได้รวดเร็วกว่าไข่ที่มีขนาดใหญ่ ตามที่งานวิจัยของ Kuroshima and Tominaga (2021) ที่รายงานว่า *B. japonica* มีการเจริญที่รวดเร็ว เนื่องจากไข่มีขนาดเล็กทำให้มีระยะเวลาในการฟักไข่ที่รวดเร็ว คณะผู้วิจัยมีความคิดเห็นว่าการเจริญที่รวดเร็วของอึ่งปากขวดนอกจากจะเป็นประโยชน์ในการเอาตัวรอดจากผู้ล่าแล้ว ยังให้ประโยชน์ในการหาอาหารได้ด้วยตัวเองได้ไวขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการเจริญในระยะต่อไป ต่างจาก *Kurixalus eiffingeri* ที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน (วงศ์ Rhacophoridae) มีไข่ขนาดใหญ่ และมีการเจริญช้ากว่า แต่ทั้งนี้กบชนิดดังกล่าวมีรูปแบบการปรับตัวเพื่อลดเซกการเจริญที่ช้าโดยการวางไข่ในโพรงไม้ซึ่งจะช่วยให้ไข่มีความปลอดภัยกว่าการวางไข่ในน้ำโดยตรง หรือในกรณีของ *Colostethus machalilla* ใช้เวลาตั้งแต่ปฏิสนธิจนถึงกะเทาะจากเยื่อหุ้มนานถึง 19-20 วัน (del Pino et al., 2004) แต่มีการปรับตัวให้อยู่รอดได้โดยการวางไข่ในดินที่เปียกชื้น และตัวเพศผู้จะปกป้องไข่จนกว่าตัวอ่อนจะพัฒนาสมบูรณ์จนกลับลงไปในน้ำได้ นอกจากนี้ อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเอ็มบริโอของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก อาทิเช่น กบ *Lithobates onca* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเจริญไวกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 และ 20 องศาเซลเซียส (Goldstein et al., 2017) ในกรณีของ *Pleurodema diplolister* และ *Rhinella granulosa* มีความต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมต่างกัน โดยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ *P. diplolister* ลดการเจริญเติบโต ซึ่งตรงกันข้ามกับ *R. granulosa* (Maciel and Juncá, 2009) อุณหภูมิของน้ำในการศึกษาการเจริญเติบโตของอึ่งปากขวดครั้งนี้เท่ากับ 27-28 องศาเซลเซียส บ่งชี้ว่าเป็นอุณหภูมิที่อึ่งชนิดนี้สามารถอยู่รอดได้ อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตยังคงเป็นประเด็นที่ควรทำการศึกษาเพิ่มเติม

ลักษณะลูกอ๊อดอึ่งปากขวดมีสีดำคล้ำและมีเส้นสีน้ำตาลบริเวณด้านบนเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของลูกอ๊อดชนิดนี้ที่สามารถใช้จำแนกออกจากลูกอ๊อดกบและเขียดได้ หลังจากกะเทาะจากเยื่อหุ้มยังมีไข่แดงเพื่อเป็นแหล่งอาหาร ไข่แดงถูกใช้และหายไป (อายุราว 3 วันหลังกะเทาะออกมาจากเยื่อหุ้ม) ข้อมูลที่ได้ส่วนนี้เป็นประโยชน์หากต้องการเพาะเลี้ยงเลียนแบบธรรมชาติ กล่าวคือ ในช่วง 3 วันแรกหลังการกะเทาะออกจากเยื่อหุ้ม ผู้เลี้ยงไม่จำเป็นต้องให้อาหารลูกอ๊อดแต่อย่างใด การให้อาหารควรให้หลังจากที่ไข่แดงของลูกอ๊อดถูกใช้ไปหมดแล้ว (ควรเริ่มให้ในวันที่ 4) การคงอยู่ของไข่แดงให้ประโยชน์ตามที่กล่าวข้างต้นและพบได้เป็นปกติในการเจริญของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ตามที่มีปรากฏในรายงานก่อนหน้านี้ (Bohun and Breward, 2009)

แม้ว่าลูกอ๊อดอึ่งปากขวดมีหางเพื่อการว่ายน้ำแต่ในขณะเดียวกันจากการสังเกตของคณะผู้วิจัย พบว่านอกจากหางแล้ว ขาเป็นอีกอวัยวะที่ลูกอ๊อดอึ่งปากขวดใช้ในการว่ายน้ำ มีการงอกของขาหลังก่อนขาหน้า ในการศึกษาพบว่าขาหลังของลูกอ๊อดอึ่งปากขวดเริ่มปรากฏให้เห็นในวันที่ 10 ซึ่งใกล้เคียงกับอึ่งน้ำเต้า (*Microhyla mukhlesuri*) ที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน (Microhylidae) อย่างไรก็ตามแม้จะเป็นอึ่งในวงศ์เดียวกันแต่การเจริญของขาหน้าอึ่งปากขวดเกิดขึ้นไวกว่า นั่นคือประมาณ

วันที่ 15 ในขณะที่อึ่งน้ำเต้าพบเห็นการเจริญของขาหน้าในวันที่ 32 (Behr and Rödder, 2018) แต่มีลักษณะที่เหมือนกัน คือ ขาหน้ามีการเจริญขึ้นบริเวณช่องเหงือก (gill chamber) และยังอยู่ในเยื่อหุ้ม จากนั้นจึงมีการเจริญออกมาอยู่ภายนอกเยื่อหุ้ม ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่ารูปแบบการเจริญของขาอึ่งปากขวดมีลักษณะที่เกิดไม่พร้อมกัน (asynchronous development) ดังที่ปรากฏในกบหลายชนิด เช่น *Odorrana tormota* (Xiong *et al.*, 2010) *M. mukholesuri* (Behr and Rödder, 2018) และ *B. japonica* (Kuroshima and Tomina, 2021) ขาหลังมีบทบาทสำคัญทั้งในระยะลูกอ๊อดและระยะที่เจริญเป็นอึ่งปากขวดแล้ว เช่น การว่ายน้ำ การขุดโพรง และการกระโดด ในขณะที่ขาหน้ามีบทบาทเพิ่มเติมเมื่อดำรงชีวิตบนบก สอดคล้องกับ Manzano *et al.* (2008) ที่รายงานว่าขาหลังมีความสำคัญในการใช้งาน โดยใช้ในการเคลื่อนที่ที่สำคัญซึ่งเจริญก่อนขาหน้า โดยที่ขาหน้าเป็นอวัยวะที่ช่วยรองรับการทำงานของขาหลังในการนั่ง และการรับแรงกระแทกจากการกระโดด

ลูกอ๊อดเจริญเป็นลูกอึ่งปากขวดในวันที่ 25 มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร บางส่วนของหางยังสลายไม่หมด ส่วนหัวสั้น มีสีเข้ม มีแถบสีน้ำตาลบนลำตัวเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละตัว ลักษณะเช่นนี้ทำให้ลูกอึ่งปากขวดกลมกลืนกับสภาพแวดล้อมที่อาศัย ช่วยในการอำพรางตัวจากผู้ล่า สอดคล้องกับรายงานของจूरรัตน์ (2551) ที่กล่าวว่าการพรางตัวแบบแฝงเป็นการอำพรางตัวให้มีสีและลักษณะที่กลมกลืนกับสิ่งรอบข้าง ทำให้ผู้ล่าไม่สามารถมองเห็นหรือแยกแยะได้อย่างชัดเจน ซึ่งแตกต่างจาก *Epipedobates anthonyi* ซึ่งอยู่วงศ์ Dendrobatidae มีสีสันโดดเด่น ผู้ล่าเห็นได้ง่าย บริเวณผิวหนังมีสารพิษซึ่งมีความรุนแรงสามารถทำให้สัตว์ที่ถูกพิษตาย เป็นอีกหนึ่งวิธีการที่ลดการเผชิญหน้ากับผู้ล่า (del Pino *et al.*, 2007) ด้วยขนาดตัวภายหลังเกิด metamorphosis ที่สมบูรณ์ ซึ่งไม่ใหญ่มากนักและยังไม่ปราดเปรี้ยว คณะผู้วิจัยมีความคิดเห็นว่าขนาดตัวของลูกอึ่งปากขวดสามารถบ่งชี้ถึงชนิดอาหารที่ลูกอึ่งกินในธรรมชาติว่าน่าจะเป็นสัตว์จำพวกแมลงที่ขนาดพอให้จับกินได้ง่าย หลักฐานที่สนับสนุนคือการวิจัยครั้งนี้ในสภาพบ่อเลี้ยง (captive condition) ลูกอึ่งปากขวดถูกเลี้ยงโดยใช้อาหารคือปลวกซึ่งมีขนาดตัวที่พอเหมาะสำหรับการจับกิน

น้ำหนักเฉลี่ยของอึ่งปากขวดอายุ 1 วัน 45 วัน และ 90 วัน เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มคงที่เมื่ออายุ 135 วัน และ 180 วัน ผลการศึกษาในส่วนของการเจริญเติบโต สอดคล้องกับการศึกษาของ Sretarugsa *et al.* (1997) ที่ทำการศึกษากการเจริญเติบโตโดยใช้อาหารที่มีระดับโปรตีนต่างกัน (21 25 29 และ 33 เปอร์เซ็นต์) ในกบ *Hoplobatrachus tigerinus* และ *L. catesbeianus* ซึ่งพบว่ามีการเพิ่มน้ำหนักคล้ายกับการศึกษาครั้งนี้ กล่าวคือ ในช่วง 1-4 เดือนแรก ลูกกบมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้อาจเพราะเป็นรูปแบบทางชีววิทยาการเจริญเติบโตเพื่อความอยู่รอดในการเร่งการเติบโตให้ไวที่สุดช่วงแรกเพื่อให้ตัวเองเป็นผู้ล่าที่มีประสิทธิภาพและหลบเลี่ยงการถูกล่า ประกอบกับในกรณีของอึ่งปากขวดนั้นอาจเนื่องจากอาหารที่ให้มีความเหมาะสมต่อลูกอึ่งระยะนี้ โดยที่อาหารที่คณะผู้วิจัยให้ในระยะนี้คือปลวก โดยมีรายงานว่าปลวกในสกุลนี้มีระดับโปรตีนมากถึง 20.40-48.80 เปอร์เซ็นต์ (Serrano and Poku, 2014) ในการเลี้ยงอึ่งปากขวดจึงควรให้อาหารในช่วงอายุนี้อย่างเต็มที่ ในธรรมชาติอึ่งปากขวดมีการวางไข่ในช่วงต้นฤดูฝนที่มีความสมบูรณ์ของแมลง ดังนั้นจึงมีโอกาสสูง การที่ลูกอึ่งอายุ 135 วัน และ 180 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มคงที่อาจเป็นเพราะหลังจากอึ่งปากขวดวางไข่ 135-180 วัน เป็นช่วงหมดฤดูฝนเริ่มเข้าสู่ฤดูหนาว อาจทำให้มีความสมบูรณ์ของแมลงอาหารมีน้อย ทำให้อึ่งปากขวดหาอาหารได้น้อยลง ปลวกที่ให้อย่างเดียวยังอาจไม่เพียงพอทำให้น้ำหนักไม่ได้เพิ่มมากเหมือนช่วงเริ่มต้น

สรุปผลการวิจัย

การเลี้ยงอิงปากขวดเลียนแบบในสภาพธรรมชาติสามารถทำได้โดยใช้อาหารปลาตุ๋นในระยะลูกอ๊อดและปลาร่วมกับแมลงตามธรรมชาติในระยะลูกอึ่ง การเจริญเติบโตของอิงปากขวดตั้งแต่หลังปฏิสนธิจนเป็นลูกอึ่งใช้เวลาประมาณ 25-30 วัน โดยการเจริญเติบโตในระยะต่าง ๆ เป็นไปตามการเจริญเติบโตของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก โดยมีทั้งส่วนที่เหมือนและต่างจากสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดอื่นตามที่แสดงข้อมูลข้างต้นแต่ทว่ามีลักษณะทางสัณฐานของลูกอ๊อดและลูกอึ่งที่เฉพาะตัว ข้อมูลในการศึกษาชีววิทยาการเจริญเติบโตของอิงปากขวดระยะเอ็มบริโอ ลูกอ๊อด และลูกอึ่ง สามารถต่อยอดในการเพาะพันธุ์อิงปากขวดเพื่อการบริโภค การศึกษา หรือใช้ในเชิงพาณิชย์ได้ และส่งเสริมเป็นสัตว์เศรษฐกิจ เพราะได้รับความนิยมในการบริโภคเพิ่มมากขึ้น ข้อมูลการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นประโยชน์สำหรับการต่อยอดในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของอิงปากขวดให้อายุครบ 1 ปี ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนขึ้น นอกจากนี้การวิจัยชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงอิงปากขวดเป็นประเด็นที่น่าสนใจควรมีการศึกษาต่อยอด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยและนักศึกษาในการเก็บข้อมูลผลการดำเนินงาน รวมถึงสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ที่อำนวยความสะดวกเรื่องสถานที่และเครื่องมือวิจัย ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและส่งเสริมศิลปวัฒนธรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ในการสนับสนุนทุนดำเนินงานวิจัยและการประสานงาน และขอขอบคุณกองทุนฯ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สัญญาเลขที่ ปงม-004-2564) ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัยจนทำให้งานวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- กฤษฎา ตีอินทร์ และสุพัฒน์ พลชา. (2563). การปรับปรุงฮอร์โมนอัดแท่งคอเลสเทอรอล สำหรับการเพาะพันธุ์ปลา. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 51(1), 138-143.
- โกมุท อุ่นศรีสง ประสาน พรโสภณ อุมารณ จรดล และสมพร กันธิยะวงศ์. (2548). การศึกษาเพาะพันธุ์และพัฒนาการคัพภะเขียดแล้ว. *รายงานวิจัย*. กรมประมง.
- ขจรเกียรติ ศรีนวลสม ชนัญญา พุทธิปลันธน์ ขอบธรรม บัวลอย และรักพงษ์ เพชรคำ. (2562). ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมและความถี่ในการฉีดฮอร์โมน busserlin acetate ต่อการพัฒนาไข่ของแม่พันธุ์ปลาไหลนา (*Monopterus albus*) ในช่วงก่อนฤดูผสมพันธุ์. *วารสารวิทยาศาสตร์คชศาสตร์*, 41(2), 57-73.
- จूरรัตน์ ประสาร. (2551). Camouflage ศาสตร์แห่งการอำพรางตัว. *วารสารเทคโนโลยีวัสดุ*, 53, 59-62.
- ชฎาพร โพธิ์สุวรรณ และนภีรา จวอรรถ. (2565). ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเลี้ยงกึ่งก้ามกรามบางแพให้มีคุณลักษณะที่เป็นอัตลักษณ์เฉพาะพื้นที่. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 41(2), 16-27.

- ธเนศ นนท์ศรีราช. (2562). ความหลากหลายทางพันธุกรรม โครงสร้างทางพันธุกรรม และความแปรผันทางสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวด (*Glyphoglossus molossus*) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. ปรญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา). มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.
- นพพรช ทวีบท และณภาภัก ไชยน้ำอ้อม. (2558). ความหลากหลายชนิดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและการใช้ประโยชน์ในบริเวณป่าโคกขาว อำเภอนครชัย จังหวัดมหาสารคาม. รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.
- พนมเทียน นาควิจิตร. (2554). การเพาะพันธุ์อึ่งเพ้า. รายงานวิจัยเอกสารฉบับที่ 36/2554. กรมประมง.
- ยุทธนา เอียดน้อย และอมรรรัตน์ ถนอมแก้ว. (2555). ผลของการปรับพื้นที่ต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพของผลิตภัณฑ์ปลาตุ๋น. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ, 15(3), 33-38.
- สิริฉัตร สุนทรวิภาต พงษ์พันธ์ สุนทรวิภาต อภิชาติ เต็มวิชาการ และประจวบ สายบุญ. (2555). การเพาะและอนุบาลอึ่งปากขวด. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง, 6(2), 12-22.
- สุริยะ จันทรแก้ว. (2554). ชีววิทยาการเพาะขยายพันธุ์ปลาชิวควายแถบดำ. วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช, 30(1), 145-152.
- Altig, R., and Rowley, J.L.L. (2014). The breeding behavior of *Glyphoglossus molossus* and the tadpoles of *Glyphoglossus molossus* and *Calluella guttulata* (Microhylidae). *Zootaxa*, 3811(3), 381-386, doi: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3811.3.9>.
- Behr, N. and Rödder, D. (2018). Larval development stages and husbandry of the rice frog *Microhyla mukhlesuri* Hasan et al., 2014 (Anura: Microhylidae). *Bonn zoological Bulletin*, 67(2), 109-116, doi: <https://doi.org/10.20363/BZB2018.67.2.109>.
- Bohun, C.S. and Breward, C. (2009). Yolk dynamics in amphibian embryos. *Mathematics-in-Industry Case Studies Journal*, 1, 99-119.
- del Pino, E.M., Venegas-Ferrin, M., Romero-Carvajal, A., Montenegro-Larrea, P., Saenz-Ponce, N., Moya, I.M., Alarcon, I., Sudou, N., Yamamoto, S., and Taira, M. (2007). A comparative analysis of frog early development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(29), 11882-11888, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.070509210>.
- del Pino, E.M., Avilia, M.U., Perez, O.D., Bennitez, M.S., Alarcon, I., Noboa, V. and Moya, I.M. (2004). Development of the dendrobatid frog *Colostethus machalilla*. *The International Journal of Developmental Biology*, 48(7), 663-670, doi: <https://doi.org/10.1387/ijdb.041861ed>.
- Duncan, D.W. (1955). Multiple-range and multiple f-test. *Biometrics*, 11(1), 1-42, doi: <https://doi.org/10.2307/3001478>.
- Goldstein, J.A., Hoff, K.V.S. and Hillyard, S.D. (2017). The effect of temperature on development and behaviour of relict leopard frog tadpoles. *Conservation Physiology*, 5(1), 1-8, doi: <https://doi.org/10.1093/conphys/cow075>.

- Kuroshima, S. and Tominaga, A. (2021). Normal development of an aquatic spawning tree frog, *Buergeria japonica* (Amphibia: Rhacophoridae). *Current Herpetology*, 40(2), 169-181, doi: <https://doi.org/10.5358/hsj.40.169>.
- Laojumpon, C., Suteethorn, S. and Lauprasert K. (2012). Morphological variation of truncate-snouted burrowing frog (*Glyphoglossus molossus*) of Thailand. In *the 4th Science Research Conference* (pp. 56-61). Phitsanulok: Naresuan University.
- Maciel, T.A. and Juncá, F.A. (2009). Effects of temperature and volume of water on the growth and development of tadpoles of *Pleurodema diplolister* and *Rhinella granulosa* (Amphibia: Anura). *Zoologia*, 26(3), 413-418, doi: <https://doi.org/10.1590/S1984-46702009000300005>.
- Manzano, A.S., Abdala, V. and Herrel, A. (2008). Morphology and function of the forelimb in arboreal frogs: Specializations for grasping ability?. *Journal of Anatomy*, 213(3), 296-307, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2008.00929.x>.
- Nonsrirach, T. and Lauprasert, K. (2019). Preliminary report on the genetic structure of *Glyphoglossus molossus* (Anura: Microhylidae) from the Khorat Plateau, North-Eastern Thailand. *Journal of Natural History*, 53(13-14), 849-861, doi: <https://doi.org/10.1080/00222933.2019.1618940>.
- Sayim, F. and Kaya, U. (2008). Embryonic development of the tree frog, *Hyla arborea*. *Biologia*, 63(4), 588-593, doi: <https://doi.org/10.2478/s11756-008-0086-z>.
- Serrano, A.E. and Poku, G. (2014). Nutritive value of termite as fish meal supplement in the diet of freshwater prawns (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) juveniles. *Extreme Life, Biospeology & Astrobiology International Journal of the Bioflux Society*, 6(2), 63-71.
- Sretarugsa, P., Luangborisut, P., Kruatrachue, M., and Upatham, S. (1997). Effects of diets with various protein concentrations on growth, survival and metamorphosis of *Rana tigerina* and *R. catesbeiana*. *Journal of the Science Society of Thailand*, 23, 209-224.
- The International Union for Conservation of Nature. (2022). *The IUCN red list of threatened species*TM. Retrieved 5 November 2022, from: <https://www.iucnredlist.org/search?query=Glyphoglossus%20molossus%20&searchType=species>.
- Traijitt, T., Kitana, N., Khonsue, W. and Kitana, J. (2021). Chronological changes in the somatic development of *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834) (Anura: Dicroglossidae). *Tropical Natural History*, 21(1), 184-199.
- Xiong, R.C., Jiang J.P., Fei, L., Wang, B. and Ye, C.Y. (2010). Embryonic development of the concave-eared torrent frog with its significance on taxonomy. *Zoological Research*, 31(5), 490-498, doi: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1141.2010.05490>.