ผลของไคโตซานและไซเปอร์เมทรินต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจุลกายวิภาคของไตในตัวอ่อนกบนา

(*Hoplobatrachus rugulosus*)

ไพฑูรย์ แสนจันต๊ะ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการสอนชีววิทยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ธันวาคม 2557

ผลของไคโตซานและไซเปอร์เมทรินต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจุลกายวิภาคของไตในตัวอ่อนกบนา

(*Hoplobatrachus rugulosus*)

ไพฑูรย์ แสนจันต๊ะ

การค้นคว้าแบบอิสระนี้เสนอต่อมหาวิทยาลัยเชียงใหม่เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาการสอนชีววิทยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ธันวาคม 2557

ผลของไคโตซานและไซเปอร์เมทรินต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และจุลกายวิภาคของไตในตัวอ่อนกบนา

(*Hoplobatrachus rugulosus*)

ไพฑูรย์ แสนจันต๊ะ

การค้นคว้าแบบอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาการสอนชีววิทยา

คณะกรรมการสอบ

..... ประธานกรรมการ
(รศ.ดร. นริทธ์ สีตะสุวรรณ)

..... กรรมการ
(ผศ.ดร. กนกพร แสนเพชร)

..... กรรมการ
(อ.ดร. สุภาพ แสนเพชร)

คณะกรรมการที่ปรึกษา

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผศ.ดร. กนกพร แสนเพชร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อ.ดร. สุภาพ แสนเพชร)

12 ธันวาคม 2557

© ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แด่

ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าแบบอิสระฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร.กนกพร แสนเพชร อาจารย์ที่ปรึกษาและ อาจารย์ ดร. สุภาพ แสนเพชร ผู้ซึ่งกรุณาให้ความรู้คำแนะนำคำปรึกษากำลังใจ และตรวจแก้ไขจนเสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

กราบขอบพระคุณ รศ. ดร. นริทธิ์ สีตะสุวรรณที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบการค้นคว้าแบบอิสระและให้คำแนะนำเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ คุณวเรศ ตราชื่นต้อง และน้อง ๆ ในอาคารสัตว์ทดลองทุกคนที่ให้คำแนะนำ

ขอขอบคุณเพื่อนครูชีววิทยาทุกคนที่เป็นกำลังใจให้กันเสมอมา

ขอขอบคุณ ป้ากบ น้องมด น้องเจน และน้อง ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด

ขอขอบคุณครอบครัวที่ให้การสนับสนุนด้านกำลังทรัพย์ในการศึกษาเล่าเรียนให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทาการค้นคว้าแบบอิสระในครั้งนี้

ไพฑูรย์ แสนจันต๊ะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หัวข้อการค้นคว้าแบบอิสระ	ผลของไคโตซานและไซเปอร์เมทรินต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจุลกายวิภาคของไตในตัวอ่อนกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*)
ผู้เขียน	นายไพฑูรย์ แสนจันต๊ะ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การสอนชีววิทยา)
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผศ.ดร.กนกพร แสนเพชร อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อ. ดร. สุภาพ แสนเพชร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การลดจำนวนของประชากรสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่ถูกรายงานในอดีต พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับความเป็นพิษสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อตรวจสอบผลกระทบของไคโตซานและไซเปอร์เมทรินต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในไตของตัวอ่อนกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* และเพื่อสร้างบทปฏิบัติการสำหรับวิชาวิทยาศาสตร์ระดับมัธยมศึกษา โดยในครั้งนี้ตัวอ่อนกบนาอายุ 5 วันจะได้รับไคโตซานหรือไซเปอร์เมทรินที่ความเข้มข้น 0.2 ppm, 1.0 ppm และ 5.0 ppm เป็นเวลา 30 วัน โดยการตาย การเติบโต และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจะถูกจดบันทึกตลอดระยะเวลาการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองจึงทำการเก็บตัวอย่างไตเพื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไคโตซานและไซเปอร์เมทรินมีผลให้การรอดชีวิตของตัวอ่อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามการตายของตัวอ่อนจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของไซเปอร์เมทรินที่สูงขึ้นแต่ไม่พบเหตุการณ์ดังกล่าวในกลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนสั้นลงเมื่อความเข้มข้นของไซเปอร์เมทรินเพิ่มขึ้นแต่กลุ่มที่ได้รับไคโตซานกลับมีระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างที่นานขึ้น ในทางกลับกันสารเคมีทั้งสองชนิดกลับไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความยาวลำตัวของกบนา ลักษณะทางพยาธิสภาพที่พบในกบนาที่ได้รับสารเคมีทั้งสองชนิด ได้แก่ การฝ่อของโกลโมรูลัสและการเกิด amorphous substance ทั้งนี้ความรู้ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ถูกนำไปสาธิตแก่นักเรียนเพื่อเพิ่มความเข้าใจในความเป็นพิษของสารเคมีทางการเกษตร นอกจากนี้ยังจัดทำบทปฏิบัติการสำหรับการสาธิตดังกล่าวด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Independent Study Title	Effects of Chitosan and Cypermethrin on Metamorphosis and Microanatomy of Kidney in East Asian Bullfrog Larvae. (*Hoplobatrachus rugulosus*)
Author	Mr. Paitoon Sanchanta
Degree	Master of Science (Teaching Biology)
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Kanokporn Saenphet Advisor Lect. Dr. Suphap Saenphet Co-advisor

ABSTRACT

The declines of amphibian populations have been reported, in part, to be associated with the toxicity of pesticides contaminated in natural water resources. The present study aim to investigate the effects of chitosan and cypermethrin on metamorphosis and histological alteration of kidney in *Hoplobatrachus rugulosus* larvae and to produce the laboratory guideline for science class of secondary school. In this regard, The5-day-old larvae were either exposed to 0.2 ppm, 1.0 ppm and 5.0 ppm of chitosan or/of cypermethrin for 30 days. During the experiment, mortality, growth, and metamorphosis were recorded. The kidneys were sampled for histological examination at the end of experiment. The results revealed that chitosan and cypermethrin could significantly decrease the survivorship of the tadpole ($p \leq 0.05$). However, the mortality increased with the higher concentration of cypermethrin but not chitosan. The time to metamorphosis was decreased with increasing of cypermethrin but increased with higher concentration of chitosan. On the contrary, these two chemicals had no effect on the change of body length. The histopathological finding was also found in both of cypermethrin and chitosan exposure groups. The shrinking of glomerulus was observed together with amorphous substances inBowman's Capsule Space. Moreover, the

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

laboratory guideline was created for the demonstration.The knowledge obtained from this study was demonstrated to the student to increase the understanding of agricultural chemical toxicity.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ง
บทคัดย่อ ภาษาไทย	จ
บทคัดย่อ ภาษาอังกฤษ	ช
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูปภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง	22
บทที่ 4 ผลการทดลอง	26
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง	58
บทที่ 6 สรุปผล	69
บรรณานุกรม	70
ภาคผนวก ก	79
ภาคผนวก ข	84
ประวัติผู้เขียน	100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

			หน้า
ตาราง	1	แสดงการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน *H. rugulosus* โดยเปรียบเทียบระหว่าง กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 5.0, 1.0 และ 0.2 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 5.0, 1.0 และ 0.2 ppm	26
ตาราง	2	แสดงความยาวเฉลี่ยของตัวอ่อน *H. rugulosus* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm	31
ตาราง	3	แสดงความยาวหางเฉลี่ยของตัวอ่อน *H. rugulosus* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm	33
ตาราง	4	แสดงจำนวนวันที่ตัวอ่อน *H. rugulosus* ใช้ในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนสมบูรณ์ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm	37
ตาราง	5	แสดงการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในเนื้อเยื่อไตของตัวอ่อน *H. rugulosus* โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ที่ความเข้มข้นต่างๆ	44
ตาราง	6	การประเมินความพึงพอใจของนักเรียนต่อบทปฏิบัติการ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา	46

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพ 1	ตัวอย่างสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก	4
ภาพ 2	การเจริญเติบโตของกบ	5
ภาพ 3	ลักษณะภายนอกของกบ	6
ภาพ 4	ลักษณะโครงกระดูกของกบ	7
ภาพ 5	ผลของไทรอกซินต่อเมทาอร์โฟซิสของกบ	8
ภาพ 6	วงจรของไทรอยด์ฮอร์โมน	8
ภาพ 7	ไตของกบเป็นแบบ opisthoneprosยาวตามลำตัว (สีแดง)	11
ภาพ 8	ลักษณะระบบขับถ่ายของกบ	12
ภาพ 9	โครงสร้างของไซเปอร์เมทริน	15
ภาพ 10	โครงสร้างของไคโตซาน	17
ภาพ 11	สัตว์ที่เป็นแหล่งของไคโตซาน	18
ภาพ 12	การมีชีวิตรอดสะสมของตัวอ่อน *H. rugulosus*เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm (a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$))	27
ภาพ 13	การเปลี่ยนแปลงการมีชีวิตรอดสะสมของตัวอ่อน *H. rugulosus*เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm (a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$))	28
ภาพ 14	ความยาวลำตัวเฉลี่ยของตัวอ่อน *H. rugulosus*เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm (a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$))	30
ภาพ 15	ความยาวหางเฉลี่ยของตัวอ่อน*H. rugulosus*ในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความ	32

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หน้า

เข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm

ภาพ 16.1 การพัฒนารูปร่างของตัวอ่อน*H. rugulosus*กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm 35

ภาพ 16.2 การพัฒนารูปร่างของตัวอ่อน*H. rugulosus*กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm 36

ภาพ 17 เนื้อเยื่อไตปกติของ *H. rugulosus*ในกลุ่มควบคุม (H&E); ลักษณะของเนื้อเยื่อไตที่กำลังขยาย 4X10 (ก), ท่อไตและโกลเมอรูลัสที่กำลังขยาย 10X10 (ข)โดยแสดงบริเวณของ Renal corpuscle และ แสดงบริเวณของ Renal tubule 38

ภาพ 18 ลักษณะโครงสร้างหน่วยไตของตัวอ่อน *H. rugulosus*ในกลุ่มควบคุม (H&E); ลักษณะของ Renal corpuscle กำลังขยาย 20X10 38

ภาพ 19 ลักษณะโครงสร้างหน่วยไตของตัวอ่อน *H. rugulosus*ในกลุ่มควบคุม (H&E); ลักษณะของเนื้อเยื่อ ท่อไตที่กำลังขยาย 20X10 39

ภาพ 20 ลักษณะโกลเมอรูลัสของตัวอ่อน *H. rugulosus*ในกลุ่มต่างๆ ที่กำลังขยาย 40X10(H&E) ;กลุ่มควบคุม (ก), กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2 (ข), 1(ค) และ 5 ppm (ง), กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 (จ) และ 1 ppm (ช) ลูกศรชี้แสดง Amorpheous Substances ภายในโกลเมอรูลัส 40

ภาพ 21 ลักษณะของโกลเมอรูลัสของตัวอ่อน *H. rugulosus*ที่เกิดการฝ่อ ที่กำลังขยาย 40X10 (H&E);กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 5 ppm (ก-ข), กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 ppm (ค) 41

ภาพ 22 ลักษณะของท่อไตของตัวอ่อน *H. rugulosus*ในกลุ่มต่างๆ ที่กำลังขยาย 40X10 (H&E);กลุ่มควบคุม (ก), กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2(ข), 1 (ค) และ 5 ppm (ง), กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 (จ) และ 1 ppm (ช) 42

ภาพ 23 ลักษณะเลือดที่พบในไตของตัวอ่อน *H. rugulosus*ที่กำลังขยาย 10X10 (H&E);กลุ่มควบคุม (ก), กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2 (ข), 1 (ค) และ5 ppm (ง), กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 (จ) และ 1 ppm (ช) 43

ภาพ 24 ลักษณะของตัวอ่อนที่ได้รับไคโตซานเข้มข้น 1 ppm ที่มีการงอกของรยางค์คู่หน้าซีกขวาแล้วแต่ซีกซ้ายยังเป็นเพียงตุ่มนูนเท่านั้น 45

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หน้า

ภาพ 25 ลักษณะของตัวอ่อนที่ได้รับสารไซเปอร์เมทรินเข้มข้น 1 ppm ที่มีการงอกของรยางค์คู่หน้าซีกขวาแล้วแต่ซีกซ้ายยังเป็นเพียงตุ่มนูนเท่านั้น 45

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่พึ่งพาการใช้สารเคมีทางการเกษตรหลายชนิด ทั้งสารเคมีสังเคราะห์และสารสกัดจากธรรมชาติ เพื่อการป้องกันกำจัดศัตรูพืช รวมทั้งส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ปัจจุบันสารเคมีหลายชนิดได้รับความนิยมในการเกษตรของไทย อาทิ ดีดีที (DDT) แลนแนท (Lannate) ไซเปอร์เมทริน (Cypermethrin) นอกจากสารเคมีสังเคราะห์เหล่านี้แล้ว สารสกัดจากธรรมชาติหลายชนิดเช่น น้ำสะเดา จุลินทรีย์ประสิทธิภาพสูง (Effective Microorganism; EM) รวมถึง ไคโตซาน ก็เริ่มเป็นที่แพร่หลายในหมู่เกษตรกรไทย และด้วยการเปิดการค้าเสรีในปัจจุบันทำให้เกษตรกรไทยต้องพึ่งพาสารเคมีเหล่านี้มากยิ่งขึ้น เพื่อการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลผลิตให้สามารถแข่งขันกับสินค้าจากต่างประเทศได้และ จากการสอบถามเกี่ยวกับการใช้สารเคมีทางการเกษตรของเกษตรกรในตำบลนานกกก อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ทำการเกษตรเป็นหลัก โดยผลผลิตมีทั้งพืชนา และพืชสวน ทำให้ได้ทราบข้อมูลถึงสารเคมีทางการเกษตรที่ส่วนใหญ่เกษตรกรเลือกใช้ ซึ่งมีหลากหลายประเภท แต่ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายได้แก่ ไซเปอร์เมทรินและไคโตซาน โดยเน้นการใช้ไซเปอร์เมทรินกับแมลงศัตรูพืชในนาข้าว และไคโตซานสำหรับการป้องกันเพลี้ยและบำรุงข้าวในนา อย่างไรก็ดี เกษตรกรสามารถบอกถึงอันตรายของสารเคมีดังกล่าวต่อร่างกายของตนเองได้ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าจะมีผลกระทบในแง่อื่นนอกจากอาจทำให้เกิดการตายของสัตว์ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่เป้าหมายของการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่อาศัยอยู่ในบริเวณดังกล่าวโดยในการศึกษาผลกระทบของสารไคโตซานและไซเปอร์เมทรินครั้งนี้ได้ศึกษาในกบนา ซึ่งเป็นสัตว์ประจำถิ่นในพื้นที่ทำการเกษตร ซึ่งด้วยรูปแบบของการดำรงชีวิตทำให้เสี่ยงต่อการได้รับผลกระทบจากสารเคมีทางการเกษตร และอาจส่งผลต่อจำนวนกบนา หรือผู้บริโภคในระบบนิเวศบริเวณนั้น ๆ ได้ มีรายงานว่าช่วงที่ตัวอ่อนกบมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างนั้นจะมีการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมอย่างมาก (Miyata and Ose, 2012) นอกจากนี้การปนเปื้อนในน้ำยังอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่ออวัยวะสำคัญ เช่น ตับ ไต สมอง อวัยวะสืบพันธุ์ ของกบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นา เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งไต ซึ่งมีบทบาทสำคัญมากต่อการดำรงชีวิตของกบนา เมื่อไตเกิดความผิดปกติก็จะส่งผลต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ด้วย

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อศึกษาผลของสารไซเปอร์เมทริน และไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) ผลการวิจัยนี้จะนำไปสู่แนวทางการศึกษาผลกระทบและการป้องกัน ตลอดจนสร้างความตระหนักถึงประโยชน์และโทษของการใช้สารเหล่านี้ทั้งสองชนิดต่อไปโดยเน้นการสร้างความตระหนักถึงผลกระทบจากความเป็นพิษของสารไคโตซานและไซเปอร์เมทริน ผ่านการเรียนรู้ของนักเรียน แต่การจัดการเรียนรู้ในรายวิชาวิทยาศาสตร์ที่ผ่านมานั้น นักเรียนเกิดความเบื่อหน่ายในการเรียนเพราะครูเน้นการบรรยาย การทำปฏิบัติการนั้นยุ่งยาก ขาดอุปกรณ์ที่เหมาะสม หรือครูผู้สอนไม่มีเวลาสำหรับการจัดกิจกรรมทำปฏิบัติการเนื่องด้วยต้องปฏิบัติหน้าที่พิเศษอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากการสอนผลการศึกษาในครั้งนี้จึงได้นำมาจัดทำเป็นสื่อสำหรับนักเรียนในระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น ในรูปแบบบทปฏิบัติการ เพื่อให้ง่ายต่อการปฏิบัติการทดลอง นักเรียนสามารถปฏิบัติได้เอง และใช้อุปกรณ์ที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น ซึ่งจะส่งผลให้นักเรียนเกิดเจตคติที่ดีต่อวิทยาศาสตร์สามารถสร้างองค์ความรู้ เกิดการพัฒนาผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนโดยผ่านกิจกรรมทางวิทยาศาสตร์ และเกิดความตระหนักถึงผลของการใช้สารกำจัดศัตรูพืช รวมถึงการนำความรู้ที่ได้ไปเผยแพร่แก่ผู้ปกครองของนักเรียน และนำความรู้ไปประยุกต์ใช้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาผลของสารไคโตซานและไซเปอร์เมทรินต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและลักษณะทางจุลกายวิภาคของไตในตัวอ่อนกบนา

2. เพื่อจัดทำคู่มือปฏิบัติการในการเรียนการสอนในสาระที่ 1 สิ่งมีชีวิตกับกระบวนการดำรงชีวิต และ สาระที่ 2 สิ่งมีชีวิตกับสิ่งแวดล้อม ในกลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

การเกษตรของไทยนั้นมีการเปลี่ยนแปลงโดยตลอดอย่างต่อเนื่องนับตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน จากการใช้แรงงาน การเกษตรในรูปแบบการเกษตรอินทรีย์ สู่การใช้เครื่องจักร และการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ดังนั้น ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาจึงมีการศึกษาและพัฒนาความรู้เกี่ยวกับเคมีการเกษตรอย่างต่อเนื่องทั้งการจำแนกประเภท การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี พิษวิทยา ทำให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ๆ ขึ้นอย่างมาก องค์ความรู้เหล่านี้เป็นพื้นฐานสำคัญในการศึกษาการค้นคว้าฉบับนี้อย่างยิ่ง จึงได้รวบรวมเนื้อที่เป็นประโยชน์โดยสังเขปดังนี้

1. สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก: กบ
2. การเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนกบ
3. ไตกบ
4. สารเคมีที่ใช้ในการเกษตร
5. ปัญหาการจัดการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก(สาลิกาและคณะ, 2549; วีรยุทธ,2552)

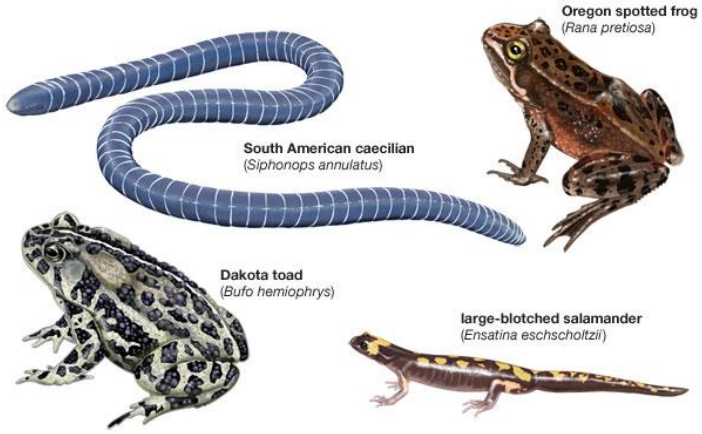
สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (Amphibian) เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังกลุ่มแรกที่ประสบความสำเร็จในการดำรงชีวิตบนบก ปัจจุบันจำแนกออกเป็น 3 อันดับ คือ

1) อันดับ Gymnophionaมีสมาชิกในกลุ่มของเขียดงู (Caecilian)

2) อันดับ Urodelaหรือ Caudataมีสมาชิกในกลุ่มของ ซาลาแมนเดอร์และนิวต์

3) อันดับ Anura มีสมาชิกในกลุ่ม กบ อึ่งอ่าง คางคก เป็นต้น สัตว์ในกลุ่มนี้จัดว่ามีจำนวนมากที่สุดในคลาสนี้ ดังนั้นการศึกษาที่เกี่ยวกับสัตว์ครึ่งน้ำครึ่งบกส่วนใหญ่จึงนิยมใช้สัตว์ในกลุ่มนี้เป็นต้นแบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวงศ์ Ranidae เพราะมีความหลากหลายสูง พบได้ทั่วไปและมีขนาดใหญ่ ทำให้ง่ายต่อการนำมาศึกษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 1 ตัวอย่างสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก

ที่มา : http://media-1.web.britannica.com/eb-media/28/117228-004-8084EA3A.jpg

ลักษณะทั่วไป (สาลิกาและคณะ, 2549; วีรยุทธ,2552; กรมประมง,2538; อภิชาตและคณะ, 2554)

กบเป็นสัตว์ครึ่งน้ำครึ่งบกที่ชาวไทยนิยมใช้บริโภคเป็นอาหารมาช้านาน นับตั้งแต่สมัยโบราณ กบจัดเป็นอาหารประเภทเนื้อที่มีคุณค่าทางอาหารสูงและมีรสชาติอร่อยถูกปากคนไทย สามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายชนิด

กบถูกจัดอยู่ในอันดับคลาสย่อย Lissamphibiaซึ่งหมายถึงสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกผิวเรียบ เพราะสัตว์ในคลาสย่อยนี้ไม่มีเกล็ดหรือขนปกคลุมลำตัว ผิวหนังมีเมือกลื่นเคลือบเพื่อช่วยในการแลกเปลี่ยนก๊าซและยังสามารถรับน้ำเข้าสู่ร่างกายได้ทางผิวหนังทำให้สัตว์กลุ่มนี้ไม่ต้องดื่มน้ำ ดังนั้นจึงมักอาศัยอยู่ในพื้นที่ชุ่มน้ำหรือมีความชื้นสูงเพื่อป้องกันการเสียน้ำ

การเจริญและการเปลี่ยนรูปร่างของตัวอ่อนกบ

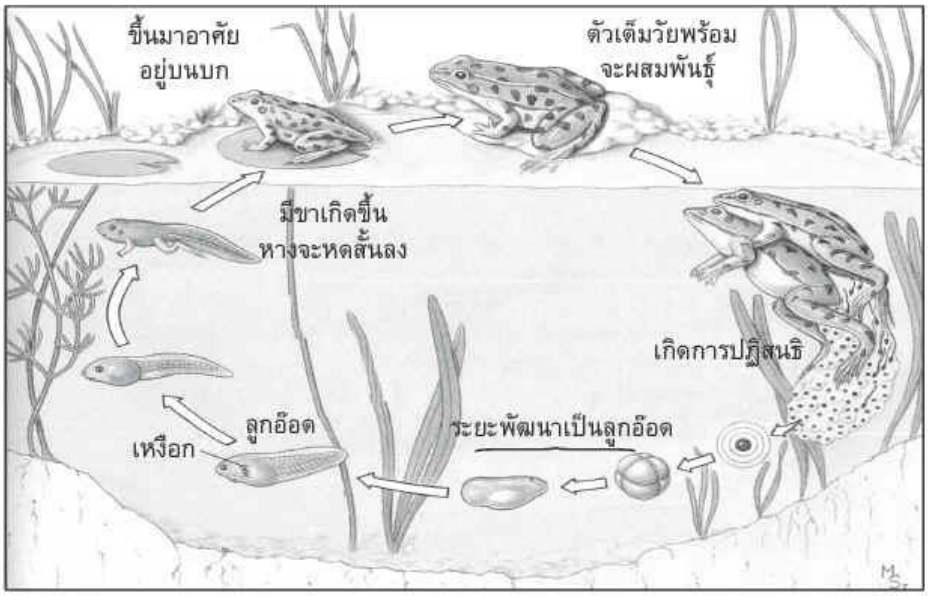
กบนามีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการเจริญเติบโตหลังจากการปฏิสนธิ ดังนี้

ช่วงระยะเวลาที่เป็นเป็น ไข่ จะกินระยะเวลา 0 – 1 สัปดาห์ ระยะนี้ไข่ มีรูปร่างกลม มีเมือกหุ้มช่วยให้ไข่ลอยอยู่บนผิวน้ำและป้องกันไม่ให้สัตว์อื่นกินไข่เป็นอาหาร

จากนั้นจะเข้าสู่ระยะที่เรียกว่า ลูกอ๊อด (tadpole) ใช้เวลา 7 – 10 สัปดาห์ ในช่วงแรกยังไม่มีการเจริญเติบโตของรยางค์การเคลื่อนไหวอาศัยหางซึ่งมีโนโตคอร์ด (Notochord) เป็นแกนภายในทำหน้าที่ช่วยในการโบกพัดในทิศทาง ซ้าย – ขวา เป็นหลัก มีหัวโต มีหาง หางจะยาว หายใจทางเหงือก ระยะตัวอ่อน รูปร่างของกบในระยะนี้จะแตกต่างจากระยะเจริญวัยอย่างมาก โดยมีรูปร่างและการดำรงชีวิตคล้ายปลา เรียกว่า ลูกอ๊อด(Tadpole) ส่วนลำตัวและหางแตกต่างกันอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชัดเจน ในระยะนี้จะอาศัยอยู่ในน้ำใช้เหงือกในการแลกเปลี่ยนก๊าซเป็นหลักซึ่งเมื่อเข้าสู่ระยะเจริญวัยมักจะหดหายไปและใช้ปอดในการหายใจแทน (ภาพ 2) การเจริญเติบโตจากระยะตัวอ่อนโดยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนกระทั่งเหมือนระยะเจริญพันธุ์เช่นนี้ เรียกกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Metamorphosis) ตัวอ่อนของกบนาที่อยู่ในระยะนี้จะมีตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงต่อสิ่งแวดล้อมมากเป็นพิเศษ (Duellman and Treub, 1986)



ภาพ 2 การเจริญเติบโตของกบ

ที่มา : http://www.maceducation.com/e-knowledge/2422210100/13.htm

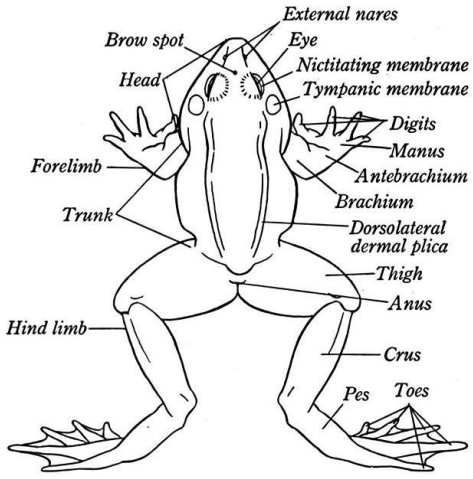
ในสัปดาห์ที่ 5 - 9 ตัวอ่อนเจริญสู่ระยะที่เรียกว่า ลูกกบ โดยระยะนี้รยางค์คู่ท้ายของลำตัว (Hind limb) เริ่มงอกออกมาก่อนอีกทั้งยังมีขนาดใหญ่และแข็งแรง และในสัปดาห์ที่ 9 ส่วนรยางค์คู่หน้า (Fore limb) ซึ่งมีขนาดเล็กและสั้นกว่าจะงอกออกมาภายหลังเมื่อหางหดสั้นลงมากปอดเริ่มพัฒนาขึ้นเพื่อการหายใจจนมีรูปร่างคล้ายกับพ่อแม่ที่เจริญวัยในที่สุด และเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 12 ลูกกบมีหางที่หดสั้นมาก รูปร่างเหมือนตัวเต็มวัย และจะมีรูปร่างเหมือนตัวเต็มวันทุกประการ ในช่วงสัปดาห์ที่ 13 – 16 ระยะลูกกบ หรือ วัยรุ่น (Juvenile) จะมีรูปร่างลักษณะรวมทั้งแบบแผนการดำรงชีวิตที่เหมือนกับพ่อแม่ที่เจริญเต็มที่แล้วทว่ามีขนาดเล็กกว่า

ระยะเจริญพันธุ์ หรือ ผู้ใหญ่ (Adult) นอกจากสีสันหรือลักษณะจำเพาะตัวบางอย่างแล้วสัตว์ตระกูลกบจะมีลักษณะร่วมซึ่งอาจแบ่งออกเป็นส่วนของหัวและลำตัว ดังนี้ (ภาพ 3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

ส่วนหัว (Head) ส่วนหัวของกบมีลักษณะคล้ายสามเหลี่ยมแบน ส่วนหน้าสุดของหัวเป็นส่วนที่เปิดของช่องปาก (Mouth) ซึ่งเหนือขึ้นไปเล็กน้อยจะพบช่องเปิดของจมูก 1 คู่ (External nares) ส่วนบนสดของหัวเป็นสันนูนของตา (Eye) กบมีตา 1 คู่หันออกด้านข้างลำตัว หนังตาบเคลื่อนที่ไม่ได้ แต่หนังตาล่างชั้นในสามารถเคลื่อนที่ได้มาปิดดวงตาเพื่อป้องกันอันตรายและรักษาความชื้น เรียก Nictitating membrane ด้านท้ายของหัว พบแผ่นเยื่อกลมที่เรียกว่า เยื่อแก้วหู (Tympanic membrane) โดยปราศจากใบหู ใต้คางอาจพบถุงกล่องเสียง (Vocal sac) ซึ่งปรากฏในเฉพาะเพศผู้และจะเด่นชัดเมื่อถึงฤดูกาลผสมพันธุ์ โดยมากจะเห็นเป็นผนังบางย่นสีคล้ำ

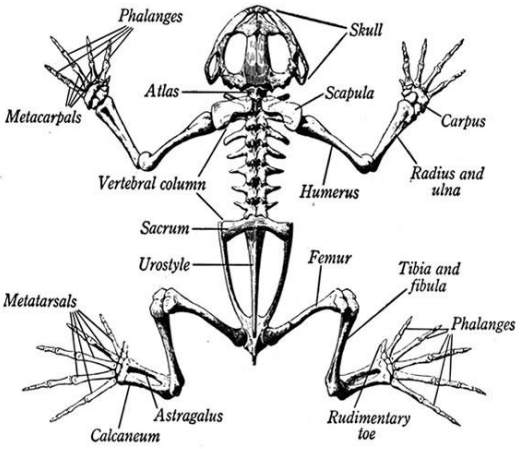
ส่วนลำตัว (Body) กบที่โตเต็มวัยมักจะไม่ปรากฏลักษณะของหาง ส่วนของลำตัวโค้งงอและสั้นไม่ปรากฏชัดเจน กบมีรยางค์ขา 2 คู่ โดยคู่ทางด้านซ้ายลำตัวจะมีขนาดใหญ่และแข็งแรง เป็นผลมาจากการยืดยาวของกระดูก ทิบิโอฟิบูลา (Tibio-fibula) (ภาพ 4) และการเชื่อมรวมกับกระดูก แอสทราการัส (Astragalus) และคัลคาเนียม (Calcaneum) ซึ่งส่งเสริมการกระโดดอันเป็นการเคลื่อนที่หลักของกบ ในขณะที่รยางค์คู่หน้ามีบทบาทในการทรงตัวและรองรับน้ำหนักของส่วนหัว กบมีนิ้วเท้าหน้า 4 นิ้ว โดยนิ้วที่ 5 มักจะลดรูปเหลือเพียงแค่ติ่งเล็ก ๆ หรือไม่ปรากฏเลย ในขณะที่นิ้วเท้าหลัง มักปรากฏครบทั้ง 5 นิ้ว ระหว่างทั้ง 5 นิ้วมีพังผืดช่วยในการกระโดด ร่อนและว่ายน้ำ เมื่อกบโตเต็มที่แล้วเหงือกจะหายไป การหายใจจะใช้ปอดแทน และรับออกซิเจนทางผิวหนังด้วย ส่วนหางก็จะหดสั้นและหายไป พร้อมที่จะดำรงชีวิตทั้ง บนบกและในน้ำ



ภาพ 3 ลักษณะภายนอกของกบ

ที่มา : http://persianpet.org/forum/images/imported/2011/03/707.jpg

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4 ลักษณะโครงกระดูกของกบ

ที่มา : http://nbcsscience.weebly.com/uploads/2/6/1/6/26165844/3412046_orig.jpg

การควบคุมการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนกบ

การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนกบนา ไปเป็น กบตัวเต็มวัย อาศัยการควบคุมโดยการทำงานของไทรอยด์ฮอร์โมนซึ่งสร้างจากต่อมไทรอยด์ และถูกส่งไปยังเซลล์เป้าหมายตามกระแสเลือด ที่เซลล์เป้าหมายจะมีตัวรับสัญญาณจากไทรอยด์ฮอร์โมน เมื่อไทรอยด์ฮอร์โมนจับกับตัวรับสัญญาณที่เซลล์เป้าหมายแล้ว สัญญาณดังกล่าว จะกระตุ้นให้เซลล์นั้น สร้างโปรตีนหรือเอนไซม์ขึ้นมาเพื่อทำหน้าที่ต่าง ๆ

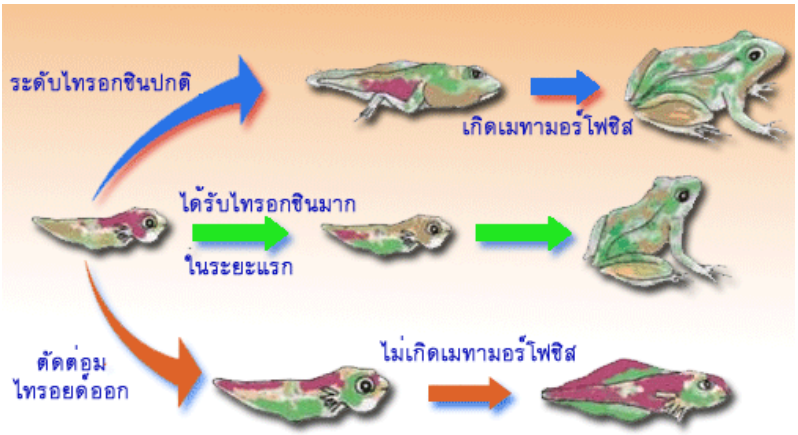
ซึ่งผลของไทรอยด์ฮอร์โมน ที่ปริมาณต่างกันจะส่งผลต่อตัวอ่อนกบนา ในการเจริญดังนี้

- ทำให้มีการเจริญเติบโตของสัตว์ เช่น กบ จะเจริญจากตัวอ่อนเจริญไปเป็นกบโตเต็มวัยได้ตามปกติ

- ถ้าขาดฮอร์โมนไทรอกซินจะทำให้ตัวอ่อนไม่เปลี่ยนแปลงรูปร่างกลายเป็นกบโตเต็มวัย

- ถ้ามีมากเกินไปก็จะเจริญไปเป็นกบอย่างรวดเร็ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

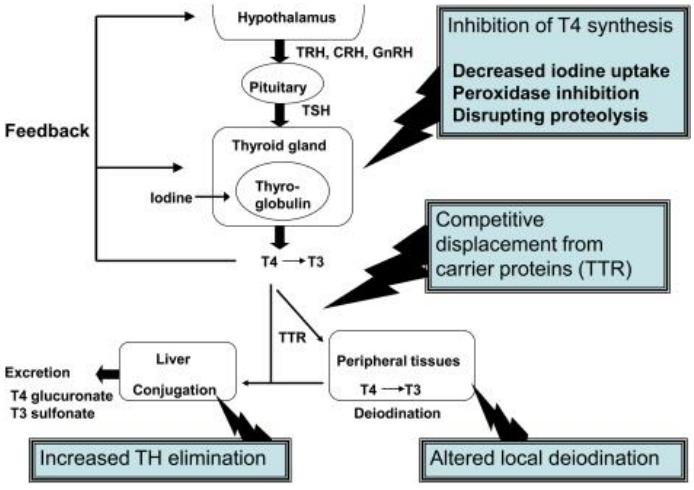


ภาพ 5 ผลของไทรอยด์ฮอร์โมนต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบ

ที่มา : http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/hormone/image/frog.gif

ไทรอยด์ฮอร์โมนและผลการทำงาน (Miyata, and Ose, 2012)

เป็นที่ทราบกันคือ ต่อมไทรอยด์หลั่ง ไทรอยด์ฮอร์โมน คือ ไทรอกซิน (Thyroxin; T4) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่สามารถทำงานได้คือ 3,3',5-ไตรไอโอโดไทโรนิน (3,3′,5-triiodothyronine, T3) จากนั้นจึงขนส่งไทรอยด์ฮอร์โมนในกระแสเลือดไปยังเซลล์เป้าหมายโดยอาศัยโปรตีนในการขนส่งไปยังอวัยวะเป้าหมาย ชื่อ ทรานส์ไทเรทิน (transthyretin; TTR) ซึ่งจะถูกนำไปทำลายที่ตับและน้ำดีในภายหลัง ไทรอยด์ฮอร์โมนนั้นอาจถูกรบกวนด้วยหลายปัจจัย เช่น การเติมซัลเฟต (T3 - sulfonate) หรือเติมกรดกลูโคโรนิก (T4 – glucoronidate) หรือแม้กระทั่งการดึงเอาไอโอดีนออกในกระบวนการสังเคราะห์ไทรอยด์ฮอร์โมน (ภาพ 6)



ภาพ 6 วงจรของไทรอยด์ฮอร์โมน

ที่มา : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3320151/bin/tox-25-001-g002.jpg

การยับยั้งการดูดซึมไอโอดีนและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ก็รบกวนการสังเคราะห์ไทรอยด์ฮอร์โมนรวมถึงการหลั่งด้วยเช่นกัน นอกจากนี้การยับยั้ง เอนไซม์ 5 – deiodinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของไทรอยด์ฮอร์โมนมีผลให้ลดการเปลี่ยนจาก T4 ไปเป็น T3 นอกจากนั้นเอนไซม์จากตับคือ phenol sulfotranferase และ UDP – glucuronyl transferase ทำให้เกิดการขับเอาทั้ง T4 และ T3 ออกมากับน้ำดีมากขึ้นยิ่งกว่านั้น การแข่งขันการจับกับโปรตีนขนส่งในกระแสเลือดของสารอื่น ก็มีผลต่อปริมาณไทรอยด์ฮอร์โมนในซีรัม เช่นกัน ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้หลากหลายที่สารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมที่จะมีผลต่อการทำงานของไทรอยด์ฮอร์โมน

การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และฮอร์โมนที่เกี่ยวข้อง

กระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนอย่างเป็นระบบนั้นถูกควบคุมโดยการทำงานของไทรอยด์ฮอร์โมน ซึ่งมีตัวอย่างการศึกษาดังนี้ ได้มีการให้สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของตัวรับสัญญาณไทรอยด์ฮอร์โมนให้แก่ *X. laevis* พบว่าไม่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างต่อไปได้ (Lim *et al*., 2002) ในทางตรงข้าม ถ้าให้สารที่สนับสนุนการทำงานของตัวรับสัญญาณของไทรอยด์ฮอร์โมนจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเร็วขึ้น (Furlow *et al*., 2004) นอกจากนี้พบว่าการตอบสนองต่อไทรอยด์ฮอร์โมนนั้นต่างกันไปในแต่ละช่วงการพัฒนา และปริมาณที่หลั่งของไทรอยด์ฮอร์โมนก็จะแตกต่างกัน กล่าวคือ ในช่วงท้ายของระยะมีหางมีรยางค์หลัง และระยะที่ไร้หางมีรยางค์หน้าหลังจะมีปริมาณของ Thyroid stimulating Hormone (TSH) สูงกว่าระยะลูกอ๊อดระยะช่วงแรกของการมีหางมีรยางค์หลัง และในตัวเต็มวัย (Kaneko *et al*., 2005) ปริมาณของสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ไทรอยด์ฮอร์โมนเองก็มีผลเช่นกัน คือ ปริมาณของ ไทโรโกลบูลิน (Thyroglobulin) ที่ไหลเวียนในกระแสเลือดในปริมาณต่ำนั้นจะถูกพบในระยะแรกๆ ของการเจริญเติบโต และพบมากขึ้นในระยะที่มีหางมีรยางค์หน้าหลัง (Suzuki and Fujikura, 1994)

นอกจากนั้น ในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ทั้ง Corticotrophin – releasing hormone (CRH) และ Gonadotropin – releasing hormone (GnRH) รวมถึง Thyrotropin – releasing hormone (TRH) ต่างก็มีผลต่อการหลั่งของ TSH เช่นกัน ได้มีการศึกษาในกบบูลฟรอก พบว่า CRH เป็นตัวแปรสำคัญที่กระตุ้นให้เกิดการหลัง TSH ทั้งในตัวเต็มวัยและในระยะตัวอ่อน ในขณะที่ทั้ง TRH และ GnRH นั้นจะมีบทบาทในช่วงเป็นตัวเต็มวัยเท่านั้น (Okada *et al.,* 2004) Kaneko *et al*. (2005) ได้

แสดงให้เห็นว่าการ ไทรอยด์ฮอร์โมนนั้นสามารถยับยั้งหลั่ง TSH ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำโดย CRH ได้ จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า นอกจากการทำงานของไทรอยด์ฮอร์โมนแล้ว ยังมีปัจจัยของสารเคมีอื่น ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนกบนาด้วย

นอกจากการควบคุมการทำงานของไทรอยด์ฮอร์โมนแล้ว การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา ยังอาจเป็นผลเนื่องมาจาก ความเครียดอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เช่น กรณีที่สระน้ำกำลังแห้ง ลูกอ๊อดจะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเร็วขึ้นก่อนที่น้ำในสระจะแห้งเสียก่อน (Morey and Reznick, 2004) ทั้งนี้เพราะ ความเสี่ยงภายหลังจากการเปลี่ยนรูปร่างเป็นกบตัวเต็มวัยที่สามารถอาศัยทั้งบนบกและในน้ำนั้นมีน้อยกว่าการดำรงชีวิตในน้ำเพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจทำให้ขาดแคลนอาหาร หรือขาดแคลนที่อยู่อาศัย ซึ่งจัดเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ตัวอ่อนกบเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Wilbur and Collin, 1973) จากการศึกษา Maciel และ Juncà (2009) พบว่าตัวอ่อนของ *P. dipolister* มีการพัฒนาการของร่างกายช้าลงเมื่อถูกลดปริมาณน้ำที่อาศัยและให้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ตัวอ่อนยังสามารถเติบโตได้ดี และนอกจากนี้ได้ทดสอบใน *R. granulosa* โดยนำตัวอ่อนไปเลี้ยงที่ที่มีอุณหภูมิ 26 และ 33 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอ่อนที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส มีการเติบที่ดีกว่าตัวอ่อนที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิมีผลให้เกิดการเติบโตของตัวอ่อนและลดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อน ทั้งนี้เพราะ อุณหภูมิที่เพิ่มนั้นเพิ่มอัตราการไหลของเลือด ทำให้ ฮอร์โมนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตไหลเวียนได้ดีขึ้น

ไตกบ (พงษ์รัตน์ , 2551; online, 2557)

ไตเป็นอวัยวะสำคัญส่วนหนึ่งของระบบทางเดินปัสสาวะ ซึ่งประกอบด้วย ไต ท่อไต กระเพาะปัสสาวะ ท่อปัสสาวะ ไตเป็นอวัยวะที่สำคัญของร่างกายเช่นเดียวกับอวัยวะสำคัญอื่นๆ เช่น หัวใจ ตับ ปอด กระเพาะอาหาร สมอง ซึ่งอวัยวะต่างๆ เหล่านี้ ต่างก็ทำหน้าที่เฉพาะส่วน แต่มีการประสานงานกันเป็นอย่างดี จึงทำให้ร่างกายเป็นปกติสุขอยู่ได้ หากอวัยวะใดอวัยวะหนึ่งเสียหรือถูกทำลาย ก็จะมีผลกระทบต่อการทำงานของอวัยวะอื่นได้

หน้าที่ของไตมีหลายอย่าง ได้แก่

1. การปรับสมดุลน้ำในร่างกาย
2. การปรับสมดุลของสารเกลือแร่และกรด-ด่างในร่างกาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

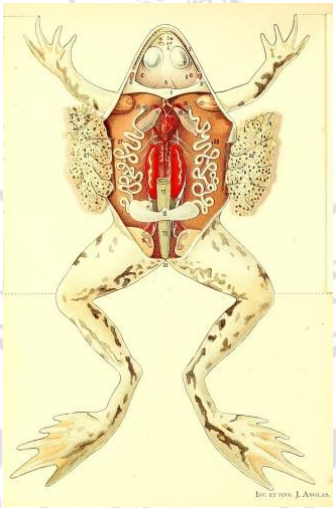
3. การกำจัดของเสียออกจากร่างกาย

4. การผลิตฮอร์โมนหลายชนิดในร่างกาย เช่น

- ฮอร์โมนเรนนิน (Rennin) ช่วยควบคุมความดันโลหิตของร่างกาย และการดูดซึมของเกลือแร่ที่ไต ซึ่งมีผลต่อความดันโลหิตเช่นกัน ดังนั้น ถ้าไตเสื่อม จะเกิดความผิดปกติของการหลั่งฮอร์โมนเรนิน มีผลทำให้เกิดความดันโลหิตสูงได้

- ฮอร์โมนอิริโทรพอยอีติน (Erythropoietin) เป็นฮอร์โมนที่จำเป็น ช่วยให้ไขกระดูกสร้างเม็ดเลือดแดง ในกรณีที่ไตเสียหน้าที่ การหลั่งสารนี้จะลดลง ทำให้การสร้างเม็ดเลือดแดงน้อยลง และเกิดภาวะโลหิตจางได้

5. การสังเคราะห์เม็ดเลือดแดง ในเนื้อเยื่อของไตกบมีความสามารถเป็นเนื้อเยื่อที่สามารถสร้างเม็ดเลือดแดงได้ เมื่อยังอยู่ในระยะตัวอ่อน และความสามารถนี้จะค่อย ๆ หายไปเมื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย (Maniatis and Ingram, 1971)



ภาพ 7 ไตของกบ เป็นแบบ opisthonephrosยาวตามลำตัว (สีแดง)

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Opisthonephros.jpg

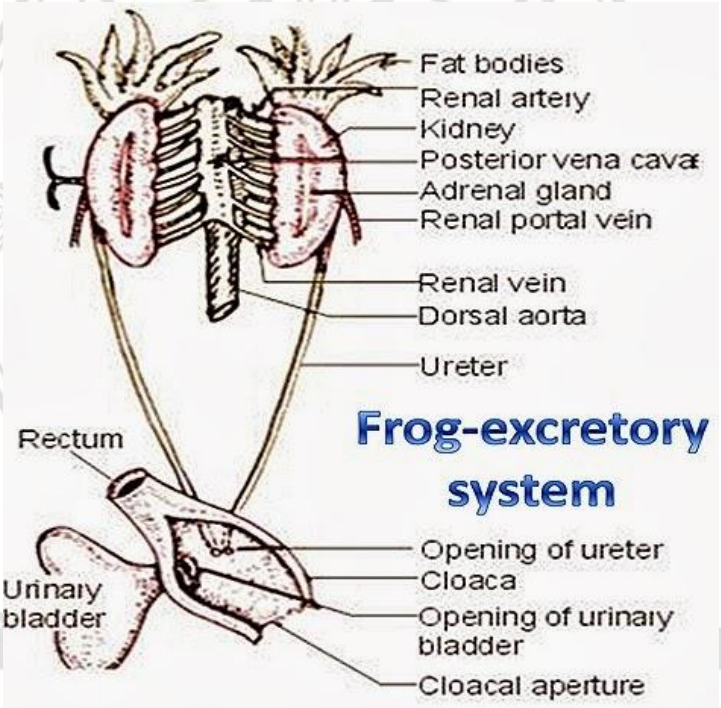
ไตกบเป็นอวัยวะในระบบขับถ่าย เช่นเดียวกับไตของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ไตกบจะอยู่เป็นคู่บริเวณด้านหลังของร่างกาย ภายนอกช่องท้อง และอยู่ด้านล่างของโพรงน้ำเหลือง ไตแต่ละอันจะมีลักษณะค่อนข้างแบน ยาว และมีสีแดงเข้ม ขอบด้านนอกมีลักษณะเรียบและโค้งเล็กน้อย ขอบด้านในเป็นปุ่มหยัก ด้านท้องของไตปกคลุมด้วยเยื่อหุ้ม ผิวด้านท้องของไตแต่ละอันพบ ท่อเปิดที่มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะเป็นปากแตร เรียกว่า เนโฟรสโตม (nephrostome) ปลายด้านนอกเปิดกว้างในขณะที่ปลายด้านในจะแคบ และแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อไต

ด้านนอกของไตจะพบแถบสีเหลือง แนบมาตลอดความยาวของไตตั้งแต่ด้านหัวของไตมาจนถึงบริเวณกลางของด้านท้องของไตซึ่งทำหน้าที่คล้ายต่อมหมวกไต

เส้นเลือดเอออร์ตาพาดผ่านระหว่างไตทั้งสองทางด้านหลัง และแตกแขนงเป็นเส้นอาร์เทรี 5 - 7 คู่เข้าไปยังไตแต่ละอัน ในขณะเดียวกันเส้นเวน 5 - 7 คู่ ก็จะนำเลือดออกจากไตเข้าไปยังเส้นเลือดเวนาคาวาทางด้านหน้า และยังมีเส้นเวนอีกคู่หนึ่งที่จะรับเลือดจากทางด้านหลังของร่างกายและนำเลือดเข้าสู่ไต่ละข้าง โดยนำเลือดเข้าขอบด้านนอกและกระจายเป็นเส้นเลือดฝอยต่อไป



ภาพ 8 ลักษณะระบบขับถ่ายของกบ

ที่มา : http://lh4.ggpht.com/-JgOeTT6E2Ds/Uxb6TaG8sOI/AAAAAAAAC-0/L8og_vU-EVQ/frog-excretory-system%25255B11%25255D.jpg

ของเสียที่ผ่านจากการกรองโดยไตแล้วจะไหลออกจากไตแต่ละข้างไปตามท่อไตที่เชื่อมต่อกับไตแต่ละข้าง ท่อไตแต่ละอันจะติดกับไตบริเวณหน้าสุดของไต จากนั้นก็ไหลผ่านไปยังกระเพาะปัสสาวะ และไหลออกทางช่องเปิดภายนอกลำตัวต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สืบเนื่องจากการที่ไตนั้นมีบทบาทสำคัญ จึงได้มีการใช้ไตกบหรือสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอื่น ๆ ในการศึกษาผลกระทบต่อการใช้สารเคมีอย่างหลากหลาย เช่น Çakıcı (2015) ได้ศึกษาการตอบสนองของไตใน *Bufotes variabilis* ต่อการตอบสนองต่อคาร์บาริล พบว่า มีความผิดปกติต่อไต โดยมีผลทำให้โกลเมอรูลัสฝ่อตัว ตรวจพบเลือดออกในเนื้อเยื่อไต มีการสะสมแวคิวโอลในเนื้อเยื่อไตอีกด้วย ในการศึกษาของ Nesovic-Ostojic *et al.* (2008) ได้ศึกษาผลของ Cd^{2+} และ Hg^{2+} ต่อการขนส่ง K^{+} ในเซลล์ของท่อไตใน พบว่า Cd^{2+} และ Hg^{2+} มีผลทำให้มีการการดูดซึมของ K^{+} ของเยื่อหุ้มเซลล์ของท่อไตเพิ่มมากขึ้น เป็นต้น

อย่างไรก็ตามพบว่าสัตว์ในตระกูลนี้กำลังอยู่ในภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ โดยมีสารเคมีทางการเกษตรเป็นหนึ่งในสาเหตุสำคัญแม้ว่าสัตว์ในกลุ่มนี้จะไม่ใช่เป้าหมายของการใช้สารเคมีดังกล่าว แต่ด้วยการปนเปื้อนของสารเคมีเหล่านี้ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อวิกฤตของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมาเป็นเวลากว่า 20 ปี (Hayes *et al*., 2006) ปัจจุบันนี้พบว่าสถานการณ์ของสัตว์กลุ่มนี้ได้ลดลงอย่างมาก เกือบ 168 ชนิดที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์และ พบว่า อย่างน้อย 43% ของที่เหลือมีแนวโน้มลดลง ยิ่งไปกว่านั้นสัตว์เหล่านี้ได้มีการกระจายตัวอยู่ในพื้นที่ทำการเกษตรทั่วโลก และมีรายงานการค้นพบสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดใหม่ (Rowley *et al.*, 2010) และพบว่าในประเทศไทยมีการนำเข้าของสารเคมีทางการเกษตรมากถึง 6.3 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 93,844 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2554 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ (สาคร, 2556)

สารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในปัจจุบัน

สารกำจัดศัตรูพืชนั้นมีการใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน สารกำจัดศัตรูพืชบางชนิดก็ไม่สามารถย่อยสลายได้ ดังนั้นจึงสะสมในสิ่งแวดล้อม และมีความเป็นพิษในกรณีที่มีการสะสมมากยิ่งขึ้น (Bro - Rasmussem, 1996) เช่นเดียวกันกับการสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชแม้จะสัมผัสที่ระดับความเข้มข้นต่ำเป็นเวลานานก็จะสามารถทำให้เป็นโรคมะเร็งและอาจเกิดความผิดปกติทางพันธุกรรมได้ (Zahm and Blair, 1992)

ชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (สหกรณ์กรีนเนท, 2557)

สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในทางการเกษตร ที่มีการจำหน่ายทางการค้า มีกว่า 1,000 ชนิด ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ตามชนิดของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการควบคุมและกำจัด คือ สารเคมีกำจัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แมลง สารป้องกันกำจัดวัชพืช สารป้องกันกำจัดเชื้อรา สารกำจัดหนูและสัตว์แทะ สารเคมีกำจัดหอยและปู เป็นต้น

1. สารเคมีกำจัดแมลง

สารเคมีกำจัดแมลงเป็นสารเคมีการเกษตรที่มีจำนวนชนิดมากที่สุด สารเคมีกำจัดแมลงแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ตามชนิดของสารเคมีได้ 4 ประเภท คือ

1.1 กลุ่มออร์กาโนคลอรีน ซึ่งเป็นกลุ่มของสารเคมีที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้กันมาก คือ ดีดีที (DDT), ดีลดริน (dieldrin), ออลดริน (aldrin), ท็อกซาฟีน (toxaphene), คลอเดน (chlordane), ลินเดน (lindane), เอนดริน (endrin), เฮปตาครอ (heptachlor) เป็นต้น สารเคมีในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นสารเคมีที่มีพิษไม่เลือก (คือเป็นพิษต่อแมลงทุกชนิด) และค่อนข้างจะสลายตัวช้า ทำให้พบตกค้างในห่วงโซ่อาหารและสิ่งแวดล้อมได้นาน บางชนิดอาจตกค้างได้นานหลายสิบปี ปัจจุบัน ประเทศส่วนใหญ่ทั่วโลกจะไม่อนุญาตให้ใช้สารเคมีในกลุ่มนี้ หรือไม่ก็มีการควบคุมการใช้ ไม่อนุญาตให้ใช้อย่างเสรี เพราะผลกระทบด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

1.2 กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ โดยสารเคมีในกลุ่มนี้ที่รู้จักกันคือ มาลาไธออน (malathion), เฟนนิโตรไธออน (fenitrothion), พิริมิฟอสเมธิล (pirimiphos methyl), และไดคลอวอส (dichlorvosหรือ DDVP) เป็นต้น สารเคมีในกลุ่มนี้จะมีพิษรุนแรงมากกว่ากลุ่มอื่น โดยเป็นพิษทั้งกับแมลงและสัตว์อื่นๆ ทุกชนิด แต่สารในกลุ่มนี้จะย่อยสลายได้เร็วกว่ากลุ่มแรก

1.3 กลุ่มคาร์บาเมต ซึ่งมีคาร์บาริลเป็นองค์ประกอบสำคัญ โดยสารเคมีกำจัดแมลงที่รู้จักและใช้กันมาก คือ คาร์บาริว (carbaryl ที่มีชื่อการค้า Savin), คาร์โบฟุแรน (carbofura), โพรพ็อกเซอร์ (propoxur), เบนไดโอคาร์บ (bendiocarb) สารเคมีในกลุ่มคาร์บาเมตจะมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมน้อยกว่าพวกออร์กาโนฟอสเฟต

1.4 กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ เป็นสารเคมีกลุ่มที่สังเคราะห์ขึ้นโดยมีความสัมพันธ์ตามโครงสร้างของไพรีทริน ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่สกัดได้จากพืชไพรีทรัม สารเคมีในกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่อแมลงสูง แต่มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นต่ำ สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มนี้ ได้แก่ เดลตาเมธริน (deltamethrin), เพอร์เมธริน (permethrin), เรสเมธริน (resmethrin), และไบโอเรสเมธริน (bioresmethrin) เป็นต้นสารในกลุ่มไพรีทรอยด์ นั้นใช้อย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กว้างขวางในวงการเกษตร เนื่องจากสามารถกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ดี และมีความเป็นพิษต่ำเมื่อเทียบกับสารอื่น (Parker *et al*., 1978) ซึ่งจำแนกออกได้เป็น ชนิด I และ II ตามลักษณะโครงสร้าง

2. สารป้องกันกำจัดวัชพืช

สารเคมีกำจัดวัชพืชแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ พวกที่มีพิษทำลายไม่เลือก กับพวกที่มีพิษเฉพาะกลุ่มวัชพืช คือ ทำลายเฉพาะวัชพืชใบกว้าง หรือวัชพืชใบแคบ สารกำจัดวัชพืชที่มีพิษทำลายไม่เลือก คือ พาราควอท (paraquat) ส่วนที่มีพิษทำลายเฉพาะ คือ พวก แอทราซิน (atrazine), 2,4-D, 2,4,5-T เป็นต้น

3. สารกำจัดเชื้อรา

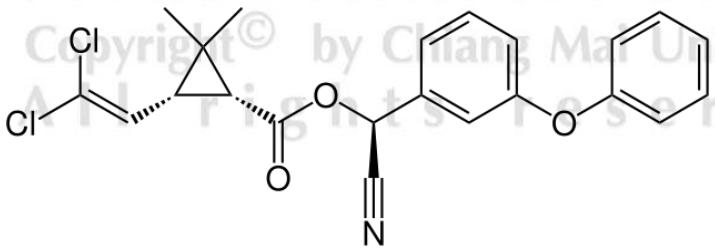
มีอยู่หลายกลุ่มมาก บางชนิดมีพิษน้อย แต่บางชนิดมีพิษมาก

4. สารกำจัดหนูและสัตว์แทะ (Rodenticides)

สารกำจัดหนูและสัตว์แทะที่นิยมใช้กัน

จะเห็นได้ว่า สารเคมีทางการเกษตรนั้นมีหลากหลายกลุ่ม อย่างไรก็ดีจากการสอบถามเกี่ยวกับการใช้สารเคมีทางการเกษตรเพื่อการกำจัดศัตรูพืชในตำบลนานกกกซึ่งเป็นพื้นที่ทำการเกษตร เกี่ยวกับการใช้สารเคมีทางการเกษตร พบว่าโดยมากมีการใช้สารเคมีสองชนิด คือ ไคโตซาน และ ไซเปอร์เมทริน เกษตรกรจะใช้ ไคโตซานสำหรับการกำจัดเพลี้ยแมลง เร่งการเจริญเติบโต ส่วนไซเปอร์เมทรินนั้นจะใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชโดยทั่วไป

ไซเปอร์เมทริน (Cypermethrin)



ภาพ 9 โครงสร้างของไซเปอร์เมทริน

ที่มา :http://en.wikipedia.org/wiki/Cypermethrin.jpg

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไซเปอร์เมทริน หรือ ∝ - cyano – 3 – phenoxybenzyl – 3,2,(2 – dimethyl 2 – 2 – dichlorovinyl) -2,2 – cyclopropane carboxylate จัดอยู่ในกลุ่มไพรีทรอยด์ประเภทที่ 2 จัดว่ามีความเป็นพิษปานกลาง

ไซเปอร์เมทริน ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี 1974 เป็นสารสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างคล้ายกับสารไพรีทรินที่สกัดได้มาจากพืชในวงเบญจมาศ สารเคมีในกลุ่มนี้ใช้ในอุตสาหกรรมการเกษตรเสียโดยมาก เนื่องด้วยมีความเป็นพิษต่ำในนกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นอกจากนี้ครึ่งชีวิตของไซเปอร์เมทรินนั้นใช้เวลา 30 วัน หรืออาจจะอยู่ในช่วง 2 – 8 สัปดาห์ ในขณะที่ครึ่งชีวิตจะลดลงเป็น 5 วันบนใบพืช (Kinsel, 1993) และจากการที่ ไซเปอร์เมทรินนั้นมีความสามารถในการยึดเกาะกับอนุภาคของดินได้ดี จึงไม่ถูกชะล้างให้ปนเปื้อนน้ำใต้ดินจึงถูกนำมาใช้แทนสารกำจัดแมลงในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และกลุ่มคาร์บาเมต อย่างไรก็ดี ไพรีทรอยด์มีความเป็นพิษสูงในปลา ด้วยปลามีความสามารถในการไฮโดรไลซ์สารเหล่านี้ต่ำ (Haya, 1989.) และยังมีผลต่อสัณฐาน พฤติกรรม กระบวนการทางชีวเคมี และความเครียดในระบบประสาทของปลาอีกด้วย (Kumar *et al*., 2009) นอกจากนี้ยังส่งให้ระดับของกรดอะมิโนอิสระสูงสุดในไตปลาลดลง (Kumar *et al*., 2011) ในสัตว์ขนาดใหญ่นั้นไซเปอร์เมทรินที่ความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวมีผลต่อกระบวนการชีวเคมีในร่างกายและการเจริญเติบโตของลูกไก่ แต่สามารถลดความรุนแรงได้เมื่อให้วิตามินอี และเซเลเนี่ยมในปริมาณที่พอเหมาะ (Aslam *et al*., 2010) เช่นเดียวกับที่ Begum ได้รายงานว่าไซเปอร์เมทรินมีผลต่อกระบวนการทางชีวเคมีใน *Clarias batrachus* ด้วยเช่นกัน จากการให้ไซเปอร์เมทริน 0.07 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 10 วัน พบว่าในช่วง 5 วันแรกของการทดลองปริมาณไกลโคเจนในตับลดลง และค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 10 ของการศึกษา (Begum, 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Caliskan *et al.* เมื่อให้ไซเปอร์เมทรินที่ความเข้มข้น 15, 20, 26 และ 35 ไมโครกรัมต่อลิตร แก่ลูกปลา *L. reticulates* เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าทุกความเข้มข้นส่งผลให้เซลล์บริเวณเหงือกของลูกปลาเสื่อมสมรรถนะลงและทำให้เกิดการตายของเซลล์บริเวณเหงือกของปลา (Caliskan *et al*., 2003) นอกจากนี้ได้มีรายงานว่าการใช้ไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 1 ใน 10 และ 1 ใน 50 ของความเข้มข้น 0.139 ppm เป็นเวลา 49 ชั่วโมง และ ความเข้มข้น 0.139ppm เป็นเวลา 49 ชั่วโมง ในปลาคาร์ป *Labeo rohita* พบว่าต่างก็มีผลทำให้ระดับของ RNA ลดลงในขณะที่ DNA เพิ่มขึ้น และพบว่ากิจกรรมของ lactate dehydrogenase ใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

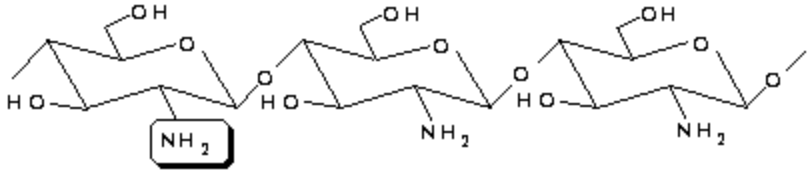
สมองและตับเพิ่มขึ้นแต่ลดลงในไต ส่วน กิจกรรมของ succinate dehydrogenase และ ATPase กลับลดลงทั้งในสมอง ตับ และไต (Das and Mukhurjee, 2003)

นอกจากความเป็นพิษดังกล่าวแล้ว ยังมีรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษของไซเปอร์เมทรินในสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น ในแมลงสาบแม้ได้รับในปริมาณ 0.02 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักสมองจะมีผลต่อเซลล์ประสาท ทำให้เกิดอาการกระสับกระส่าย นอนหมอบกับที่ และเป็นอัมพาต (Gammon *et al*., 1981) ส่วนในหนูเล็กนั้นแม้ได้รับในปริมาณน้อย (0.0 – 4.3 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว) จะแสดงอาการชักเล็กน้อยถึงมาก และมีอาการหลั่งน้ำลายร่วมด้วย (Lawrence and Casida, 1982) ในกรณีหนูใหญ่นั้นพบว่า เมื่อได้รับไซเปอร์เมทรินเข้าไปจะแสดงอาการหลายอย่าง เช่น อาการตัวสั่นอย่างรุนแรงจนหมดสติ การชักกระตุก และมีการหลั่งน้ำลายมากกว่าปกติ (Klaassen *et al*., 1996) นอกจากนี้พบว่าในหนูแรกเกิดนั้นจะมีการตอบสนองต่อไซเปอร์เมทรินมากกว่าในหนูโตเต็มวัย เนื่องจากเอนไซม์ในตับที่ทำหน้าที่สลายไซเปอร์เมทรินยังทำงานไม่สมบูรณ์ในหนูแรกเกิด (Cantalamessa, 1993)

นอกจากมีการใช้ไซเปอร์เมทรินแล้วนอกจากนี้ยังมีการใช้สารเคมีในกลุ่มของไคโตซาน ซึ่งไม่ได้มีการหวังผลในการกำจัดศัตรูพืชแต่มุ่งหวังในแนวทางการป้องกันรวมถึงการปรับปรุงคุณภาพของผลิตผลทางการเกษตรอีกด้วย

ไคโตซาน (Chitosan) (ประภัสสร, 2555)

ไคโตซานคืออนุพันธ์ของไคตินที่ตัดเอาหมู่ acetyl ของน้ำตาล N – acetyl – D-glucosamine (เรียกว่า deacetylationคือ เปลี่ยนน้ำตาล N – acetyl – D-glucosamine เป็น glucosamine) ออกตั้งแต่ 50 % ขึ้นไป และมีสมบัติละลายได้ในกรดอ่อน



ภาพ 10 โครงสร้างของไคโตซาน

ที่มา : https://www.gpo.or.th/rdi/images/chitin5.gif

ปกติแล้วไคโตซานที่ได้จะมีส่วนผสมของ น้ำตาล N – acetyl – D-glucosamine และ glucosamine อยู่ในสายโพลิเมอร์เดียวกันซึ่งระดับการกำจัดหมู่ acetyl (หรือเปอร์เซนต์การเกิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

deacetylation) นี้มีผลต่อสมบัติและการทำงานของไคโตซาน นอกจากนี้น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานบอกถึงความยาวของสายไคโตซาน ซึ่งมีผลต่อความหนืด เช่นไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะมีสายยาวและสารละลายมีความหนืดมากกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นต้น ดังนั้นการนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์จะต้องพิจารณาทั้งเปอร์เซนต์การเกิด deacetylation และน้ำหนักโมเลกุล

ปัจจุบันมีการนำไคโตซานมาประยุกต์ในด้านต่างๆอาทิเช่น

1. ด้านอาหารไคโตซานมีสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์และเชื้อราบางชนิด โดยมีกลไกคือไคโตซานมีประจุบวก สามารถจับกับเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีประจุลบได้ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนและสารอื่นของเซลล์ในหลายประเทศได้ขึ้นทะเบียนไคตินและไคโตซานให้เป็นสารที่ใช้เติมในอาหารได้โดยนำไปใช้เป็นสารกัดบูด สารช่วยรักษากลิ่น รส และสารให้ความข้นใช้เป็นสารเคลือบอาหาร ผัก และผลไม้เพื่อรักษาความสดหรือผลิตในรูปฟิล์มที่รับประทานได้ (edible film) สำหรับบรรจุอาหาร

ภาพ 11 สัตว์ที่เป็นแหล่งของไคโตซาน

ที่มา : http://lh4.ggpht.com/_yBwN635MjLw/SWQ_HDZD9AI/AAAAAAAAEKk/1zUggQJtwJQ/s400/DSC04883.JPG

2. ด้านอาหารเสริม ไคโตซานช่วยลดคอเลสเตอรอลและไขมันในเส้นเลือด โดยไคโตซานไปจับกับคอเลสเตอรอลทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้หรือดูดซึมได้น้อยลงจึงมีการโฆษณาเป็นผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ทั้งนี้ต้องใช้ด้วยความระมัดระวังเนื่องจากไคโตซานสามารถจับวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมัน (วิตามินเอ ดี อี เค) อาจทำให้ขาดวิตามินเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ ทางการแพทย์ มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รายงานการนำ N-acetyl-D-glucosamine ไปใช้รักษาไขข้อเสื่อม โดยอธิบายว่าข้อเสื่อมเกิดเนื่องจากการสึกกร่อนของเนื้อเยื่ออ่อนที่เคลือบอยู่ระหว่างข้อกระดูกซึ่ง glucosamine เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ proteoglycan และ matrix ของกระดูกอ่อน จึงช่วยทำให้เยื่อหุ้มกระดูกอ่อนหนาขึ้น

3. ด้านการแพทย์ มีการวิจัยนำแผ่นไคโตซานมาใช้ปิดแผลช่วยทำให้ไม่เป็นแผลเป็น โดยไคโตซานช่วยลดการหดตัวของเนื้อเยื่อทำให้แผลเรียบ กระตุ้นให้เกิดการซ่อมแซมบาดแผลให้หายเร็วขึ้น

4. ด้านเภสัชกรรม มีรายงานการใช้ไคโตซานเพื่อควบคุมการปลดปล่อยตัวยาสำคัญ

5. ด้านการเกษตรเนื่องจากไคตินและไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบไนโตรเจนจะถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลอย่างช้าๆรวมทั้งช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศและดิน จึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพนอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช และกระตุ้นการนำแร่ธาตุไปใช้ผลคือสามารถเพิ่มผลผลิตและคุณภาพการผลิตได้ ทำให้เกษตรกรมี ต้นทุนต่ำลงเนื่องจากลดการใช้ปุ๋ยและยาฆ่าแมลง

6. ด้านการปศุสัตว์ ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันและลดการติดเชื้อทำให้น้ำหนักตัวของสัตว์เพิ่มขึ้น

7. ด้านการบำบัดน้ำเสีย โดยทั่วไป น้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหารมีสารแขวนลอยสูง ไคโตซานมีประจุบวก สามารถจับกับโปรตีนและไขมันได้ดีซึ่งโปรตีนที่ได้สามารถแยกนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ต่อไป นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถดูดซับอิออนของโลหะหนัก และจับสี (dye) ช่วยในการบำบัดน้ำเสีย

8. ด้านสิ่งทอนำมาขึ้นรูปเป็นเส้นใยและใช้ในการทอร่วมหรือเคลือบกับเส้นใยอื่นๆ เพื่อให้ได้คุณสมบัติการต้านจุลชีพลดการเกิดกลิ่นอับชื้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>การศึกษาผลของไคโตซานต่อสิ่งมีชีวิตบางชนิด</u>

ผลของการศึกษาไคโตซานในหนูทดลองว่า ไคโตซานความเข้มข้น 0.1% มีผลต่อการเจริญของกระดูกอ่อนและบรรเทาความเจ็บปวดบริเวณกระดูกหัวเข่าได้ (Jian *et al*., 1999) สำหรับด้านความเป็นพิษของไคโตซานนั้นพบว่าที่ความเข้มข้นสูงกว่า 2000 mg/kg น้ำหนักตัวจึงจะแสดงความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต (Yoksan and Chairachanchai, 2008) ไคโตซานที่ทำให้เป็นกรดเองก็สามารถแสดงความเป็นพิษต่อปลา *O. mykiss* โดยการนำไคโตซานไปละลายในกรดอะซิติก มี

ผลให้เกิดพิษเฉียบพลันและทำให้ปลาตายภายใน 24 ชั่วโมง (Bullock *et al.*, 2000) ในสัตว์ขนาดเลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็ก เช่น หนูที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 150 ละ 300 mg/kg ทางปากเป็นระยะเวลา 35 วัน พบปริมาณ ALT AST และ ALP ซึ่งเป็นเอนไซม์ในตับรวมถึงปริมาณยูเรีย ครีเอทินีน ในซีรัมเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นที่ได้รับ และพบในหนูเพศผู้มากกว่าเพศเมีย แสดงให้เห็นว่า นอกความเข้มข้นของไคโตซานที่เพิ่มขึ้นแล้ว ความแตกต่างทางเพศเองก็มีผลต่อความเป็นพิษของไคโตซานเช่นกัน ในขณะที่ไขมันในตับกลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Omara *et al.*, 2012) และนอกจากนี้ยังพบว่า ไคโตซานเมื่อใช้ร่วมกับสารอื่น ๆ อาจแสดงความเป็นพิษได้ดังในการศึกษาในปลาคาร์ป พบว่า ไคโตซานเมื่อให้ร่วมกับทองแดง สามารถทำให้เกิดพิษได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้ทองแดงเพียงอย่างเดียว (Dautremepuits *et al.*, 2008)

จากข้อมูลดังกล่าว จะเห็นได้ว่า การศึกษาความเป็นพิษของไคโตซาน นั้นยังมีการศึกษาที่น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารกำจัดศัตรูพืชอื่น ๆ รูปแบบที่ศึกษาส่วนใหญ่เป็นไคโตซานในรูปแบบที่เป็นอนุพันธ์ หรือรูปแบบที่ต้องใช้ร่วมกับสารอื่น ๆ ดังนั้น การค้นว้าแบบอิสระฉบับนี้จึงได้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาถึงผลกระทบของไคโตซานในรูปแบบที่ไม่เป็นทั้งอนุพันธ์และไม่ได้ใช้ร่วมกับสารอื่น ๆ รวมถึงการศึกษาในไซเปอร์เมทริน เพื่อศึกษาผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจุลกายวิภาคของไตในตัวอ่อนของกบนา และนำไปสู่การให้ความรู้แก่นักเรียน เพื่อถ่ายทอดความรู้ สร้างความตระหนักให้แก่เกษตรกรในชุมชน โดยใช้สื่อการเรียนการสอน ทั้งนี้เพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในการจัดการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์สำหรับนักเรียนในระดับชั้นมัธยมศึกษาของโรงเรียนนานกกก จังหวัดอุตรดิตถ์

ปัญหาการจัดการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์

เนื่องจากวิชาวิทยาศาสตร์เป็นวิชาที่มีเนื้อหา 2 ส่วนประกอบกันคือส่วนของความรู้และส่วนของกระบวนการ ในการจัดประสบการณ์การเรียนรู้จำเป็นต้องจัดกระทำให้ครบถ้วนจึงมีความยากลำบากมากกว่าวิชาอื่นที่สอนเพียงความรู้อย่างเดียวก็สมบูรณ์ แม้จะมีข้อจำกัดในการจัดการความรู้ทั้ง 2 ส่วนในเวลาที่เท่าเทียมกับผู้สอนวิชาอื่น แต่ผู้สอนวิทยาศาสตร์ก็สามารถกระทำได้ ยิ่งมีการฝึกฝนเรียนรู้ให้มีความชำนาญการจัดประสบการณ์ให้เกิดการเรียนรู้ทั้ง 2 ส่วนก็จะเกิดขึ้นได้ไม่ยากนัก

ปัญหาในการจัดการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ในปัจจุบัน มีดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัญหาจากผู้บริหารสถานศึกษา

ปัญหาที่ผู้สอนได้รับจากผู้บริหาร เช่น การมอบหมายภาระงานที่มาก ทั้งนี้เพราะทางสถานศึกษาส่วนใหญ่จะไม่ค่อยมีอัตรา และ/หรือ มีอัตราแต่ไม่มีผู้มาสมัครทำให้ผู้สอนบางสาขา เช่น สาขาการสอนวิทยาศาสตร์ขาดแคลนผู้สอนในสถานศึกษาบางแห่ง และบางแห่งมีการจัดสรรผู้สอนไม่ตรงกับสาขาวิชา เช่น ให้ผู้สอนที่ไม่จบวิชาวิทยาศาสตร์มาสอนวิชาวิทยาศาสตร์ นอกจากนี้ยังพบปัญหาที่เกี่ยวกับงบประมาณ เนื่องจากการสอนวิชาวิทยาศาสตร์จะต้องมีการจัดกิจกรรมให้ผู้เรียนได้เรียนรู้แต่บางครั้งงบประมาณที่สถานศึกษาแบ่งให้ใช้ในการจัดซื้อวัสดุอุปกรณ์ไม่เพียงพอ ทำให้จัดหาห้องเรียน ห้องปฏิบัติการอุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีไม่ค่อยได้ ทำให้ต้องใช้อุปกรณ์และสารเคมีที่เก่าไม่มีประสิทธิภาพ ล้าหลังทำการทดลองก็ไม่เห็นผลการเปลี่ยนแปลง เป็นเหตุให้การจัดกิจกรรมการเรียนรู้ต้องถูกลดทอนไปโดยปริยาย

ปัญหาจากผู้เรียน

ผู้เรียนให้ความสนใจ ใส่ใจในการทำกิจกรรมการเรียนการสอนน้อย บางคนไม่ให้ความร่วมมือเลย นักเรียนบางส่วนอาจมีความรู้สึกเบื่อ บางส่วนขาดเรียนบ่อยด้วยปัญหาบางประการ ทำให้นักเรียนเรียนไม่ทัน นอกจากนี้ยังพบว่าสถานศึกษาบางแห่งมีการจัดผู้เรียนที่มีคุณสมบัติพิเศษมาเรียนร่วมในห้องเรียนด้วย ทำให้เกิดความหลากหลายในกลุ่มผู้เรียน

ปัญหาจากผู้สอน

ผู้สอนโดยทั่วไปจะมีปัญหาเกี่ยวกับการจัดทำหลักสูตร การจัดกิจกรรมการเรียนรู้ให้น่าสนใจ การวัด และการประเมินผลการเรียน ซึ่งเป็นสิ่งที่ผู้สอนจะต้องพัฒนาความรู้ความสามารถตนเองให้ทันสมัย เพื่อดึงดูดความสนใจของผู้เรียน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แนวทางการแก้ไขปัญหาสำหรับครูผู้สอน

1. ครูผู้สอนควรกำหนดกิจกรรมการเรียนรู้ที่ทำให้ ผู้เรียนบรรลุตามจุดประสงค์

2. ครูผู้สอนควรออกแบบกิจกรรมการเรียนรู้ที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญและให้เป็นไปตามลำดับขั้นตอนอย่างเหมาะสม

3. ครูผู้สอนควรกำหนดจุดประสงค์ให้ครอบคลุมทั้งด้านความรู้ความเข้าใจในด้านทักษะปฏิบัติการและจิตวิทยาศาสตร์เพื่อให้ผู้เรียนได้เข้าใจมากขึ้น

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้

1. สัตว์ทดลอง

ตัวอ่อนกบนา (*Hoplobatrachusrugulosus*) อายุ 5 - 7 วัน จำนวน 87 ตัวจากฟาร์มกบ คุณประเสริฐ แก้วจบ บ้านเลขที่ 32 หมู่ 10 ตำบลบ้านดอน อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์

2. อุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทดลอง

2.1กระชอน

2.2ขันพลาสติก

2.3ถังพลาสติกปริมาตร 150 ลิตร

2.4ปั๊มอากาศขนาด 2000 วัตต์

2.5สายยาง

2.6อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดสำหรับใช้เลี้ยงตัวอ่อนกบนา

2.7 อ่างพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 19.5 เซนติเมตร

3. **อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลองหาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน**

3.1 กระบอกตวงสารปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3.2 เครื่องชั่งสาร

3.3 ถุงมือยาง

3.4 น้ำประปาที่ทำการระเหยคลอรีน (de-chorinated tap water)

3.5 บีกเกอร์ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3.6ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 2.0 ไมโครลิตร

3.7หน้ากากอนามัย

3.8Cypermethrin (∝ - cyano – 3 – phenoxybenzyl – 3,2,(2 – dimethyl 2 – 2 – dichlorovinyl) -2,2 – cyclopropane carboxylate) ชื่อทางการค้า “ไซเมอร์”

3.9 Chitosan (Poly-(D)glucosamine) ชื่อทางการค้า “ไคโตซาน”

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้สำหรับการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

4.1กรรไกร

4.2กระดาษอะลูมิเนียม

4.3กล่องเก็บสไลด์

4.4กล้องจุลทรรศน์

4.5ขวดเก็บตัวอย่าง

4.6เข็มเขี่ย

4.7เครื่อง sliding-microtome

4.8ชุดย้อมสี

4.9นาฬิกาจับเวลา

4.10น้ำประปา

4.11น้ำยา permount

4.12บล็อกพลาสติก

4.13พู่กัน

4.14ไฟแช็ค

4.15อ่างพาราฟิน

4.16Bouin’s fixation

4.17Coverglass

4.18Eosin

4.19Ethanol 70%, 80%, 90%, 95% โดยปริมาตรต่อปริมาตร และabsolute ethanol

4.20Forceps

4.21Hematoxylin

4.22Hot plate

4.23Paraffin

4.24Petridish

4.25Xylene

4.26Sides

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.สถานที่ในการทำวิจัย

- อาคารสัตว์ทดลอง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีการทดลอง

1. การเลี้ยงตัวอ่อนกบนา

ในการทำวิจัยในครั้งนี้เป็นการทดลองเพื่อทดสอบความเป็นพิษของไซเปอร์เมทริน และไคโตซานตัวอ่อนกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) อายุระหว่าง 5 - 7 วัน จำนวน 87 ตัว โดยน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย และใช้เลี้ยงตัวอ่อนกบนาคือน้ำประปาที่ทำการระเหยเอาคลอรีนออก (de-chorinated tap water) โดยการสำรองน้ำไว้เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งตัวอ่อนกบนาที่นำมาทำการทดลองนี้ จะถูกนำมาพักเลี้ยงในสภาพห้องทดลองเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอ่อนปรับสภาพกับสิ่งแวดล้อม จากนั้นจึงทำการคัดเลือกตัวอ่อนที่มีสภาพแข็งแรงและขนาดลำตัวใกล้เคียงกัน

นำตัวอ่อนกบนาลงเลี้ยงในภาชนะพลาสติกทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 19.5 เซนติเมตร โดยใช้สารละลายปริมาตร 2 ลิตร เปิดปั๊มอากาศเพื่อเพิ่มออกซิเจนให้แก่สัตว์ทดลอง ตัวอ่อนกบนาจะได้รับอาหารกบสำเร็จรูปชนิดเม็ดเล็ก ในเวลา 8.00 น.และ 18.00 น. ในปริมาณที่เท่ากันคือ 20 เม็ดต่อครั้ง และทำการปิดคลุมอ่างพลาสติกด้วยตาข่ายบางเพื่อป้องกันการรบกวนต่างๆ จากภายนอก สำหรับตัวอ่อนกบนาที่ตายลงจะถูกนำออกทันที และน้ำที่ใช้เลี้ยงตัวอ่อนกบนาจะถูกเปลี่ยนทุกๆ 3 วัน

2. การเลี้ยงตัวก่อนกบนา

ตัวอ่อนกบนาจะถูกนำมาใช้ในการทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ 2 เติมไคโตซาน ปริมาณ 0.2 ppm

กลุ่มที่ 3 เติมไคโตซาน ปริมาณ 1 ppm

กลุ่มที่ 4 เติมไคโตซาน ปริมาณ 5 ppm

กลุ่มที่ 5 เติมไซเปอร์เมทริน ปริมาณ0.2 ppm.

กลุ่มที่ 6 เติมไซเปอร์เมทริน ปริมาณ 1 ppm.

กลุ่มที่ 7 เติมไซเปอร์เมทริน ปริมาณ 5 ppm.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยเลี้ยงเป็นระยะเวลา 35 วันตลอดระยะเวลาการทดลองจะบันทึกจำนวนสัตว์ที่ตาย วัดการเติบโตของตัวอ่อน และบันทึกการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อน เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะนำตัวอ่อนมาผ่าตัดเพื่อตรวจสอบลักษณะทางจุลกายวิภาคของไตต่อไป

3. การตรวจสอบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตของตัวอ่อนกบนา

นำไตตัวอย่างของตัวอ่อนกบนาที่ตรึงสภาพไว้ในสารละลาย Bouin'solutionไปทำการ ดึงน้ำออกด้วย grading ethanol ทำการให้ใสด้วย xylene แล้วนำไปผ่านกระบวนการ infiltration ด้วย paraffin จากนั้นนำมาทำ paraffin sectionโดยทำการตัดตัวอย่างไต ตัดที่ความหนา 6 ไมโครเมตร และทำการย้อมสีเนื้อเยื่อด้วย hematoxylin และ eosin สุดท้ายจึงนำมาทดสอบความผิดปกติของเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

4. การทดสอบทางสถิติ

ในการตรวจสอบข้อมูลการทดลองเชิงคุณภาพใช้ ไค – สแควร์ (Chi – square) เช่น การตาย การเจริญเติบโต และข้อมูลเชิงปริมาณใช้การทดสอบทางเดียว (One – Way ANOVA) โดยกำหนดแผนการทดลองเป็นชนิดแบบ Completely Randomized Design (CRD) จากนั้นจึงวิเคราะห์ความแตกต่าง

5.การสร้างสื่อ

5.1ออกแบบและสร้างสื่อการสอนในรูปแบบของสื่อในรูปแบบบทปฏิบัติการเรื่อง การศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์

5.2 นำสื่อการสอนไปทดลองใช้กับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่3จำนวน 30 คนและให้นักเรียนตอบแบบสอบถามโดยมีมาตราส่วนประมาณค่า (rating scale) 5 ระดับดังนี้

ระดับที่ 5 หมายถึงมีความพึงพอใจมากที่สุด

ระดับที่ 4 หมายถึงมีความพึงพอใจมาก

ระดับที่ 3 หมายถึงมีความพึงพอใจปานกลาง

ระดับที่ 2 หมายถึงมีความพึงพอใจน้อย

ระดับที่ 1 หมายถึงมีความพึงพอใจน้อยที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ข้อมูลความเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อน *H. rugulosus* ที่ได้รับไคโตซานและไซเปอร์เมทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในระยะเวลา 35 วัน และผลการตรวจสอบทางจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไต ได้ถูกรวบรวมและแจกแจงได้เป็นหมวดหมู่ดังนี้

1. ผลต่อการมีชีวิตรอด

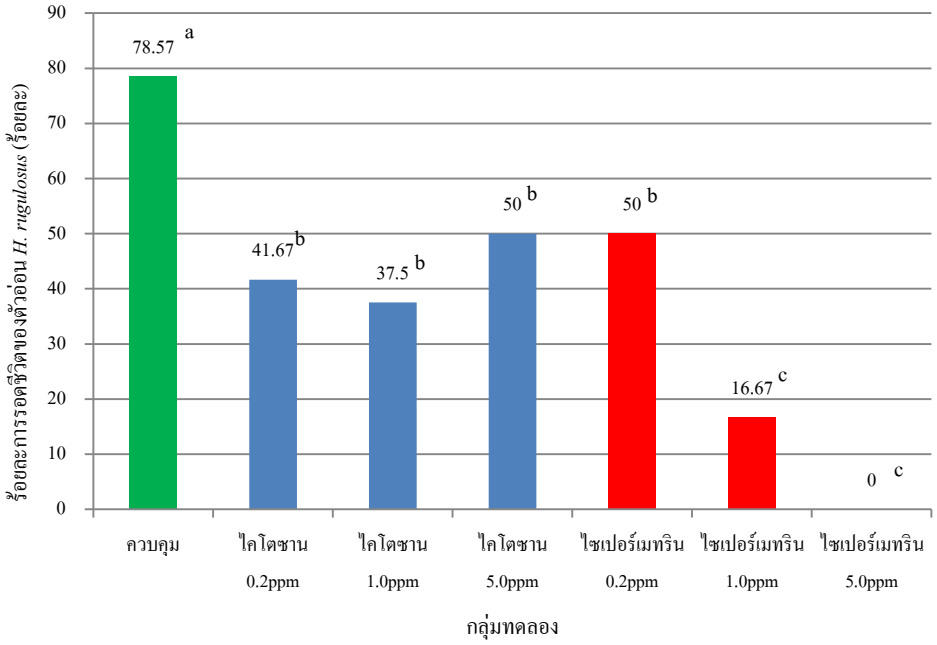
จากการรวบรวมข้อมูลรอดชีวิตของตัวอ่อน *H. rugulosus* พบว่า กลุ่มควบคุมมีการรอดชีวิตของตัวอ่อนสูงที่สุดโดยคิดเป็นร้อยละ 78.57 ในขณะที่ตัวอ่อนในกลุ่มที่ได้รับไคโตซานและไซเปอร์เมทรินมีการรอดชีวิตต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้การรอดชีวิตของตัวอ่อนที่ได้รับไคโตซานในแต่ละระดับความเข้มข้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญฯ แต่ พบว่าร้อยละการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญฯ เมื่อความเข้มข้นของสารสูงขึ้น (ตาราง 1 และภาพ 12,13)

ตาราง 1 แสดงการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน *H. rugulosus* โดยเปรียบเทียบระหว่าง กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 5.0, 1.0 และ 0.2 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 5.0, 1.0 และ 0.2 ppm เป็นระยะเวลา 35 วัน

กลุ่มการทดลอง	จำนวน *H. rugulosus* ที่มีชีวิตรอด (ร้อยละ)
กลุ่มควบคุม	78.57[a]
กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2 ppm	41.67[b]
กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 1.0 ppm	37.50[b]
กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 5.0 ppm	50.00[b]
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2 ppm	50.00[b]
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 1.0 ppm	16.67[c]
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 5.0 ppm	00.00[c]

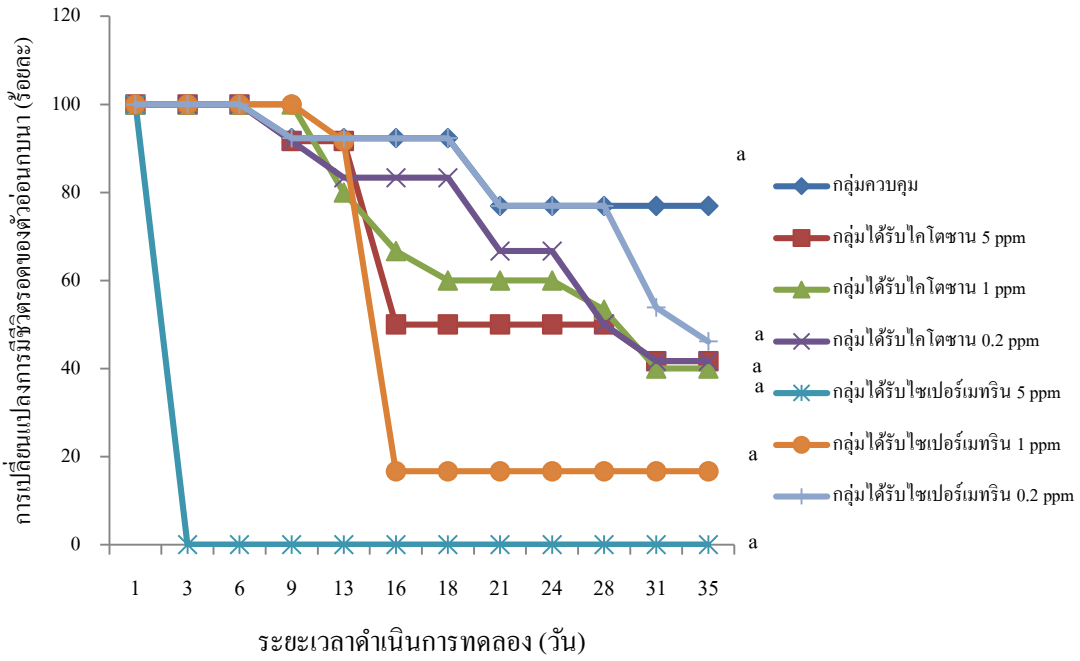
a, bและ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมันร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 12 การมีชีวิตรอดสะสมของตัวอ่อน *H. rugulosus* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm(a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$))

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 13 การเปลี่ยนแปลงการมีชีวิตรอดสะสมของตัวอ่อน *H. rugulosus*เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm (a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$))

นอกจากนี้หากพิจารณาการเปลี่ยนแปลงการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนกบนา (ภาพ 13) พบว่าตัวอ่อนที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ความเข้มข้น 5 ppm ไม่สามารถรอดชีวิตได้เกินกว่าวันที่ 3 ของการทดลอง และที่ความเข้มข้น 1 ppm ตัวอ่อนร้อยละ 83.33 ไม่สามารถรอดชีวิตได้ในวันที่ 16 ของการทดลองและที่ความเข้มข้น 0.2 ppmตัวอ่อนเริ่มตายตั้งแต่วันที่ 9 และลดจำนวนลงเรื่อยๆ จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเหลือเพียงร้อยละ 50 สำหรับกลุ่มที่ได้รับไคโตซาน พบว่าตัวอ่อนที่ความเข้มข้น 5 ppmเริ่มตายในวันที่ 9 และตายลงอย่างมากในวันที่ 16 ของการทดลอง ส่วนกลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 1 ppm ตัวอ่อนที่มีชีวิตรอดลดลงในวันที่ 13 และลดลงอย่างต่อเนื่องจนเหลือร้อยละ 37.50 สำหรับกลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2 ppmสามารถสังเกตพบการตายได้เล็กน้อยในวันที่ 9 และสังเกตพบการตายเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 13 และ 21 และมีการตายเพิ่มขึ้นจนเหลือเพียงร้อยละ 41.57 ในวันที่ 31 ของการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

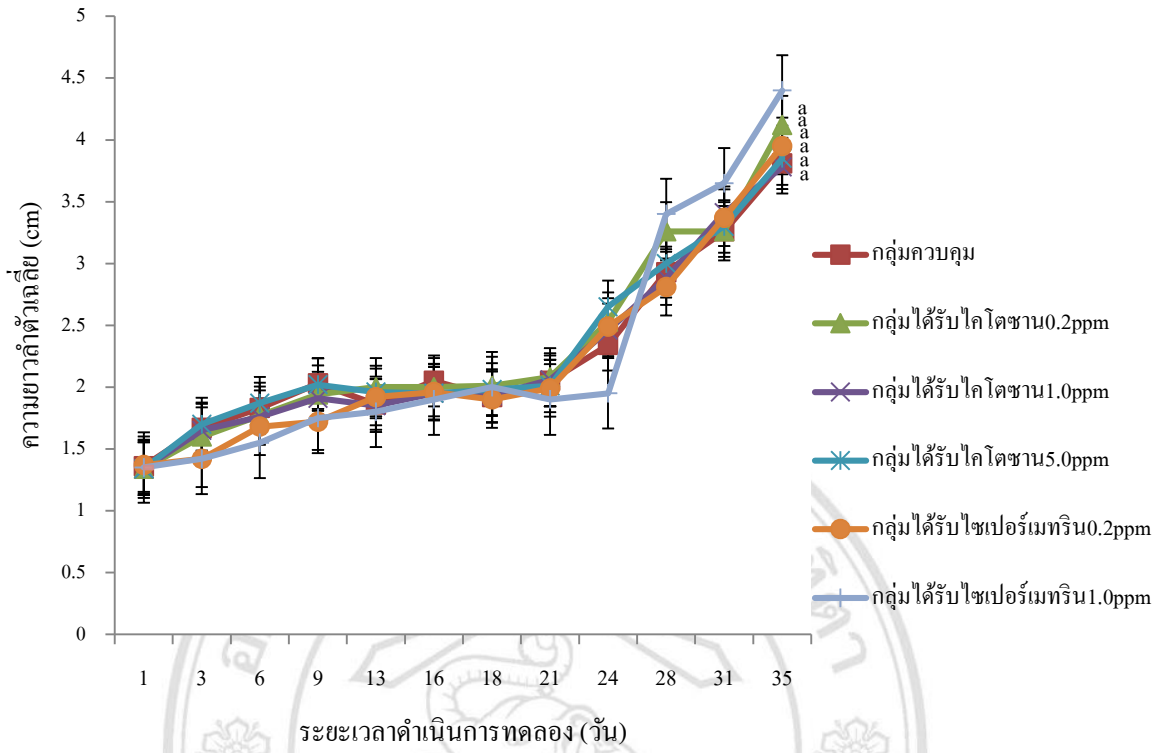
2. ผลต่อการเจริญเติบโต

เนื่องจากในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกนั้น การพัฒนาของตัวอ่อนไปสู่ระยะตัวเต็มวัยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างควบคู่ไปกับการเติบโต ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการสังเกตพัฒนาการของตัวอ่อนในครั้งนี้จึงถูกแบ่งเป็นการเติบโตและเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

ก) ผลต่อการเจริญเติบโต

การเปลี่ยนแปลงความยาวลำตัวของแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพ 14 และ ตาราง 2) การเติบโตของตัวอ่อนถูกพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของความยาวของลำตัวโดยวัดจากจมูกถึงโคนหาง (Snout vent length) โดยพบว่าในทุกกลุ่มการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงของลำตัวในรูปแบบเดียวกัน คือ ในช่วงวันที่ 1 - 21 ของการทดลองความยาวของลำตัวจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ หลังจากนั้นความยาวของลำตัวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเป็นที่น่าสังเกตในกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ความเข้มข้น 1 ppm มีการเปลี่ยนแปลงขนาดของลำตัวน้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนถึงวันที่ 24 ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนในวันที่ 6 ของการทดลอง และเช่นเดียวกันกับกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินที่ความเข้มข้น 0.2 ppm จะมีการเปลี่ยนแปลงของลำตัวน้อยกว่ากลุ่มอื่น ๆ ในวันที่ 9 ของการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 14 ความยาวลำตัวเฉลี่ยของตัวอ่อน *H. rugulosus*เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm (a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$))

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

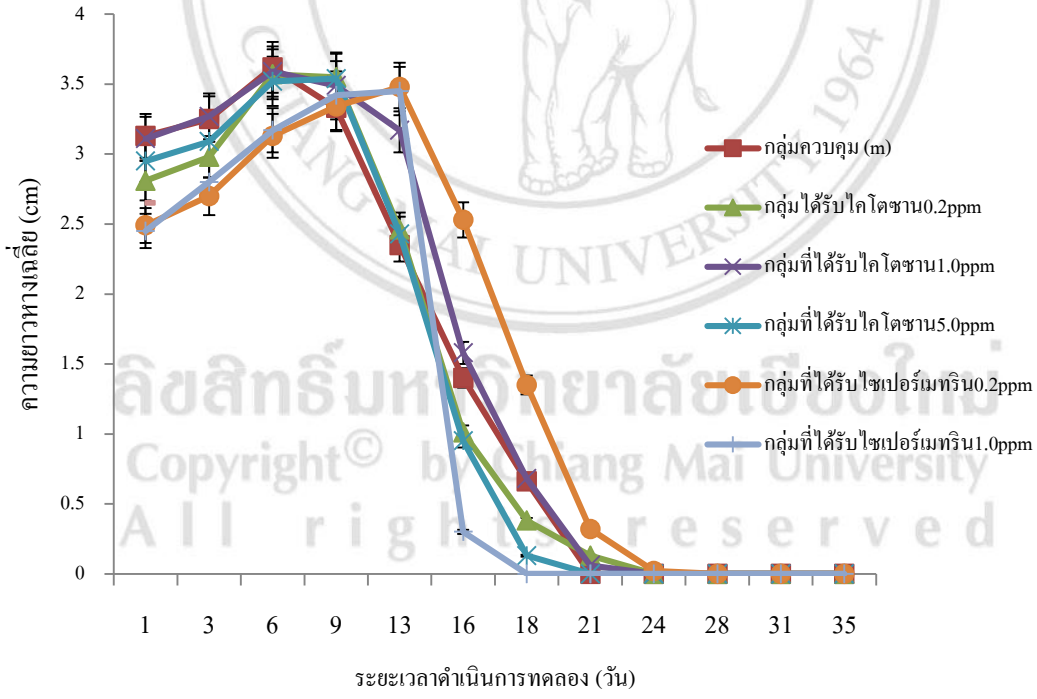
ตาราง 2 แสดงความยาวเฉลี่ยของตัวอ่อน *H. rugulosus* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมกลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm

ระยะเวลาดำเนินการ (วัน)	กลุ่มควบคุม (cm)	กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน (cm)			กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน (cm)		
		0.2 ppm	1 ppm	5 ppm	0.2 ppm	1 ppm	5 ppm
1	1.36^{a}±0.09	1.34^{a}±0.09	1.34^{a}±0.16	1.34^{a}±0.05	1.37^{a}±0.09	1.35^{a}±0.12	1.35^{a}±0.09
3	1.67^{a}±0.12	1.60^{a}±0.19	1.65^{a}±0.12	1.7^{a}±0.12	1.42^{b}±0.13	1.42^{b}±0.14	N/A
6	1.83^{ab}±0.17	1.77^{ab}±0.19	1.76^{ab}±0.15	1.87^{a}±0.10	1.68^{bc}±0.16	1.55^{c}±0.10	N/A
9	2.03^{a}±0.18	1.94^{ab}±0.13	1.91^{abc}±0.15	2.02^{a}±0.14	1.72^{c}±0.16	1.75^{bc}±0.21	N/A
13	1.86^{ab}±0.07	2.00^{c}±0.11	1.85^{ab}±0.07	1.96^{bc}±0.13	1.92^{bc}±0.10	1.80^{a}±0.10	N/A
16	2.05^{a}±0.06	2.00^{a}±0.09	1.95^{a}±0.07	1.95^{a}±0.05	1.96^{a}±0.19	1.90^{a}±0.00	N/A
18	1.92^{a}±0.08	2.01^{a}±0.88	1.93^{a}±0.07	1.98^{a}±0.04	1.90^{a}±0.06	2.00^{a}±0.00	N/A
21	2.05^{a}±0.13	2.08^{a}±0.36	2.06^{a}±0.25	2.01^{a}±0.92	1.99^{a}±0.19	1.90^{a}±0.00	N/A
24	2.34^{a}±0.21	2.53^{a}±0.41	2.46^{a}±0.52	2.65^{a}±0.32	2.49^{a}±0.47	1.95^{a}±0.00	N/A
28	2.93^{a}±0.42	3.26^{a}±0.61	2.88^{a}±0.59	3.00^{a}±0.59	2.81^{a}±0.64	3.40^{a}±0.28	N/A
31	3.26^{a}±0.40	3.26^{a}±0.56	3.41^{a}±0.59	3.30^{a}±0.52	3.37^{a}±0.66	3.65^{a}±0.21	N/A
35	3.81^{a}±0.29	4.12^{a}±0.33	3.78^{a}±0.65	3.85^{a}±0.84	3.95^{a}±1.08	4.40^{a}±0.57	N/A

a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบตามแนวนอน

ข) ผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

การเปลี่ยนแปลงรูปร่างตัวอ่อนในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่จากข้อมูลที่ได้ พบว่า ในการหดสั้นของหางของตัวอ่อนกบนั้น ตัวอ่อนกบจะมีช่วงที่หางของตัวอ่อนจะยืดยาวออกมามากที่สุด จากนั้นจะค่อยๆ หดสั้นลง และมีการงอกของรยางค์หน้าและหลัง ซึ่งเรียกระยะเวลานี้ว่า จุดวิกฤตของการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Critical period of metamorphosis) เมื่อพิจารณาในจุดนี้ จะเห็นได้ว่าในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับไคโตซานทุกความเข้มข้นมีจุดวิกฤตของการเปลี่ยนแปลงรูปร่างพร้อมกัน คือ ในวันที่ 9 ของการทดลอง ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์-เมทริน ความเข้มข้น 1 ppm และ 0.2 ppm มีจุดวิกฤตของการเปลี่ยนแปลงรูปร่างช้ากว่ากลุ่มอื่นคือ วันที่ 13 ของการทดลอง และแม้ว่ากลุ่มได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 1.0 ppm จะมีจุดวิกฤตของการเปลี่ยนแปลงรูปร่างช้ากว่ากลุ่มอื่น แต่กลับพบว่าในกลุ่มนี้มีการหดสั้นของหางเร็วกว่ากลุ่มการทดลองกลุ่มอื่น ดังจะเห็นได้ในวันที่ 16 ของการทดลอง หางจะหดสั้นมากว่ากลุ่มอื่น และจะหางจะหดจนหมดในวันที่ 18 ของการทดลอง (ภาพ 15 และ ตาราง 3)



ภาพ 15 ความยาวหางเฉลี่ยของตัวอ่อน*H. rugulosus*ในกลุ่มควบคุมกลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2,1.0 และ 5.0 ppm

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

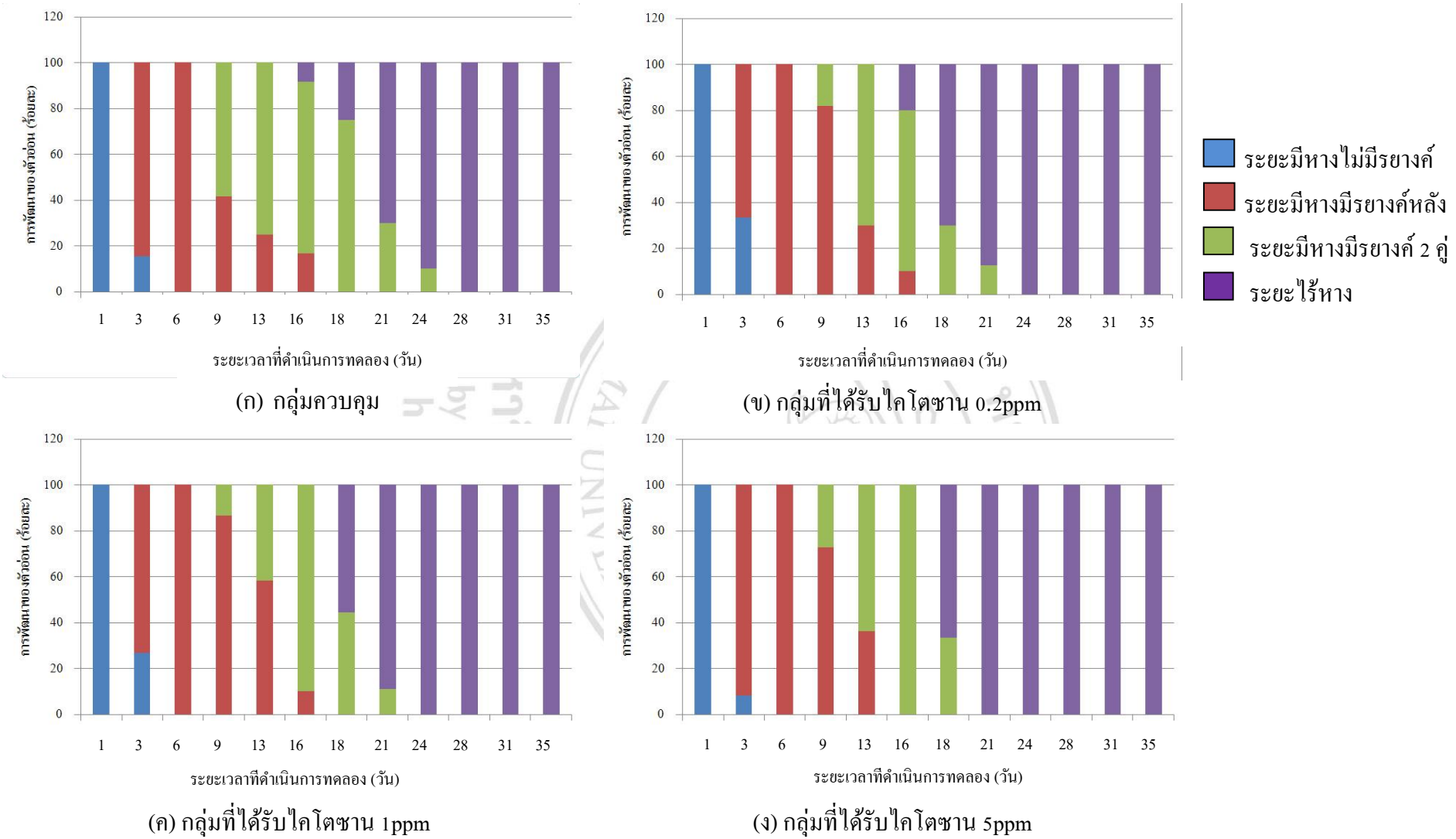
ตาราง 3 แสดงความยาวหางเฉลี่ยของตัวอ่อน *H. rugulosus* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมกลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppmและกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น0.2, 1.0 และ 5.0 ppm

ระยะเวลาดำเนินการ (วัน)	กลุ่มควบคุม (cm)	กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน (cm)			กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน (cm)		
		0.2ppm	1ppm	5ppm	0.2ppm	1ppm	5ppm
1	3.13^{a}±0.34	2.81^{abc}±0.32	3.11^{a}±0.28	2.95^{ab}±0.29	2.49^{c}±0.49	2.45^{c}±0.34	2.65^{bc}±0.43
3	3.25^{a}±0.27	2.98^{abc}±0.33	3.27^{a}±0.18	3.09^{ab}±0.34	2.70^{c}±0.42	2.80^{bc}±0.32	N/A
6	3.62^{a}±0.34	3.57^{abc}±0.29	3.59^{ab}±0.37	3.52^{abc}±0.49	3.13^{c}±0.40	3.17^{bc}±0.36	N/A
9	3.33^{a}±0.54	3.55^{a}±0.43	3.49^{a}±0.30	3.54^{a}±0.39	3.34^{a}±0.30	3.42^{a}±0.32	N/A
13	2.35^{c}±1.35	2.46^{c}±1.36	3.17^{ab}±0.95	2.43^{c}±1.49	3.48^{a}±0.12	3.45^{a}±0.29	N/A
16	1.40^{ab}±1.24	1.01^{ab}±1.48	1.58^{ab}±1.60	0.95^{ab}±0.76	2.53^{a}±1.23	0.30^{b}±0.28	N/A
18	0.66^{a}±1.31	0.38^{a}±0.97	0.68^{a}±1.19	0.13^{a}±0.22	1.35^{a}±1.28	0.00^{a}±0.00	N/A
21	0.00^{a}±0.00	0.13^{a}±0.04	0.06^{a}±0.16	0.00^{a}±0.00	0.32^{a}±0.93	0.00^{a}±0.00	N/A
24	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.02±0.01	0.00^{a}±0.00	N/A
28	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	N/A
31	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	N/A
35	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	0.00^{a}±0.00	N/A

a, b และ c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบตามแนวนอน

สำหรับการปรากฏของรยางค์นั้น เมื่อพิจารณาช่วงของการปรากฏของรยางค์ในแต่ละกลุ่มการทดลองจะใช้ระยะเวลาใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เป็นที่น่าสังเกตในการปรากฏของรยางค์ในช่วงระยะที่มีหางมีรยางค์ 2 คู่นั้น กลุ่มควบคุมจะใช้ระยะเวลา 24 วันของการทดลอง สำหรับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในระยะนี้และเข้าสู่ระยะไร้หางจนหมดในวันที่ 28 ของการทดลอง ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสารไคโตซานทุกความเข้มข้น ตัวอ่อนกบพัฒนารูปร่างเข้าสู่ระยะมีหางมีรยางค์ 2 คู่จนหมดในวันที่ 21 ของการทดลอง และเข้าสู่ระยะไร้หางมีรยางค์หน้าหลังจนหมดภายในวันที่ 24 ของการทดลอง ส่วนในกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 1 ppm จะเข้าสู่ระยะนี้จะหมดในวันที่ 16 ของการทดลอง ซึ่งเร็วกว่าทุกกลุ่ม ส่วนกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 ppm จะเข้าสู่ระยะดังกล่าวจนหมดในวันที่ 28 ของการทดลองซึ่งช้าที่สุด และเข้าสู่ระยะไร้หางมีรยางค์หน้าหลังจนหมดในวันที่ 31 ของการทดลอง เมื่อพิจารณาร้อยละของการปรากฏของรยางค์ในแต่ละช่วงจะเห็นว่าในกลุ่มควบคุมนั้นจะมีตัวอ่อนของกบเกือบทุกตัวจะเข้าสู่ระยะของการปรากฏพร้อมกัน ในขณะที่กลุ่มการทดลองอื่นๆ ตัวอ่อนของกบจะเข้าสู่ระยะช่วงระยะการปรากฏของรยางค์แต่ละช่วงไม่พร้อมกัน (ภาพ 16.1 และ 16.2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



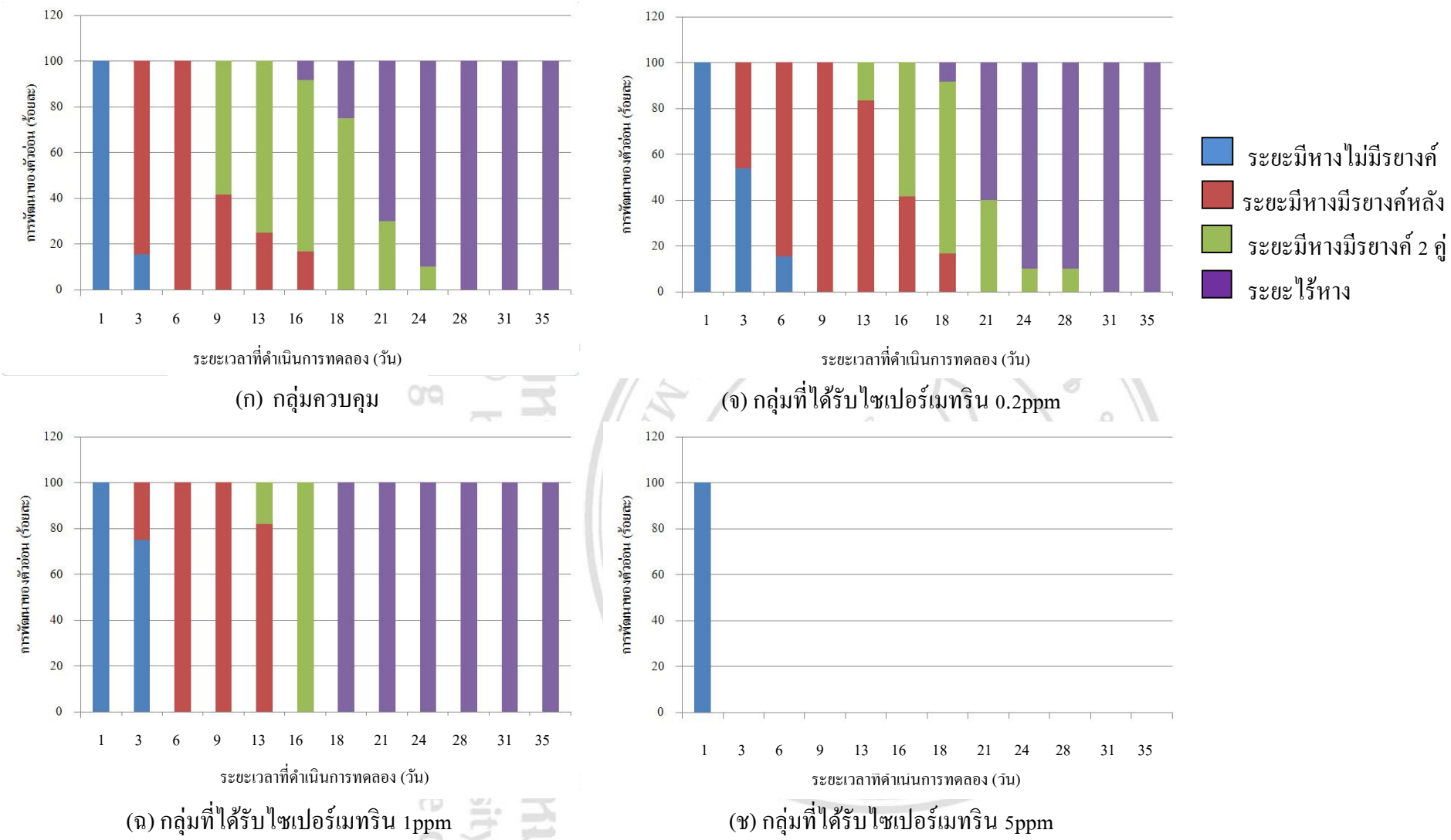
(ก) กลุ่มควบคุม

(ข) กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2ppm

(ค) กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 1ppm

(ง) กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 5ppm

ภาพ 16.1 การพัฒนารูปร่างของตัวอ่อน *H. rugulosus*กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm



(ก) กลุ่มควบคุม

(จ) กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2ppm

(ฉ) กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 1ppm

(ช) กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 5ppm

ภาพ 16.2 การพัฒนารูปร่างของตัวอ่อน*H. rugulosus*กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm

และเมื่อพิจารณาจำนวนวันที่ใช้ในการเปลี่ยนรูปร่างจนสมบูรณ์ของตัวอ่อน *H. rugulosus* พบว่าในทุกกลุ่มการทดลองใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไม่ต่างกัน ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 ppm ที่ใช้เวลามากกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตาราง 4)

ตาราง 4 แสดงจำนวนวันที่ตัวอ่อน *H. rugulosus* ใช้ในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนสมบูรณ์ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2, 1.0 และ 5.0 ppm

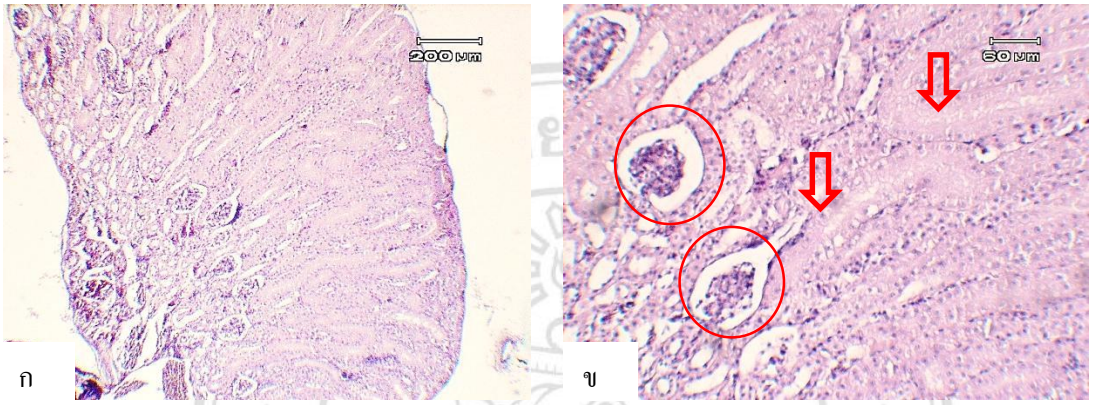
กลุ่มการทดลอง	จำนวนวันที่*H. rugulosus* ใช้ในการเปลี่ยนรูปร่างครบสมบูรณ์
กลุ่มควบคุม	18.00[a]
กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ความเข้มข้น 0.2ppm	17.43[a]
กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ความเข้มข้น 1ppm	18.57[ab]
กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ความเข้มข้น 5ppm	19.00[ab]
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ความเข้มข้น 0.2ppm	19.67[b]
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ความเข้มข้น 1ppm	18.00[a]
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ความเข้มข้น 5ppm	N/A

a, และ b แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. จุลกายวิภาค / จุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไต

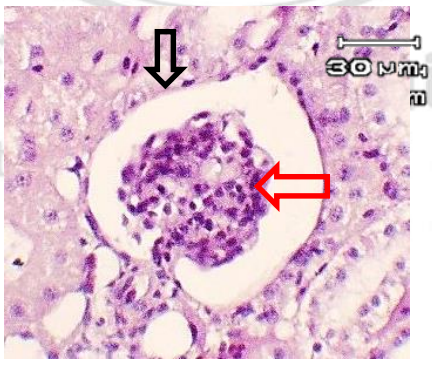
ในการตรวจสอบเนื้อเยื่อไตของตัวอ่อนในกลุ่มควบคุมพบว่าเนื้อเยื่อไตทั้งบริเวณ Renal corpuscle และ Renal tubule ไม่ปรากฏลักษณะทางพยาธิสภาพใดๆ โดยจากภาพ จะเห็นได้ว่าเนื้อเยื่อไตของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีองค์ประกอบสำคัญ 2 บริเวณ คือ Renal corpuscle และ Renal tubule แทรกรวมอยู่กับ Hematopoietic tissue



ก ข

ภาพ 17 เนื้อเยื่อไตปกติของ *H. rugulosus* ในกลุ่มควบคุม (H&E); ลักษณะของเนื้อเยื่อไตที่กำลังขยาย 4X10 (ก), ท่อไตและโกลเมอรูลัสที่กำลังขยาย 10X10 (ข) โดยแสดงบริเวณของ Renal corpuscle (วงกลมสีแดง) และแสดงบริเวณของ Renal tubule (ลูกศรแดง)

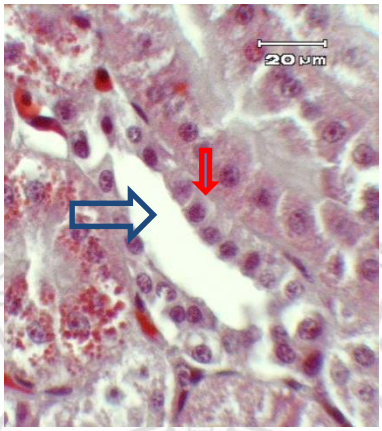
สำหรับ renal corpuscle ประกอบไปด้วย glomerulus ซึ่งมีลักษณะเป็นก้อนค่อนข้างกลมของกระจุกเส้นเลือดฝอยรวมกลุ่มอัดกันอยู่ค่อนข้างแน่นภายใน Bowman' s capsule (ภาพ 18)



ภาพ 18 ลักษณะโครงสร้างหน่วยไตของตัวอ่อน *H. rugulosus* ในกลุ่มควบคุม (H&E); ลักษณะของ Renal corpuscle ซึ่งประกอบด้วย glomerulus (ลูกศรแดง) และ Bowman's capsule (ลูกศรเหลือง) กำลังขยาย 20X10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในขณะที่ renal tube ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนในแต่ละส่วนของท่อไต โดยเซลล์ของท่อไตส่วนใหญ่มีลักษณะเป็น Simple cuboidal epithelium ดังแสดงในภาพ 19



ภาพ 19 ลักษณะโครงสร้างหน่วยไตของตัวอ่อน *H. rugulosus* ในกลุ่มควบคุม (H&E); ลักษณะของเนื้อเยื่อ ท่อไตซึ่งประกอบด้วย เซลล์เยื่อบุท่อไต (ลูกศรสีแดง) และ ช่องว่างภายในท่อไต (ลูกศรสีน้ำเงิน) กำลังขยาย 40X10

อย่างไรก็ตามจากการตรวจสอบพบว่าทั้งไคโตซานและไซเปอร์เมทรินสามารถชักนำให้เกิดลักษณะทางพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อได้ทั้งในบริเวณ Renal corpuscle และ Renal tube

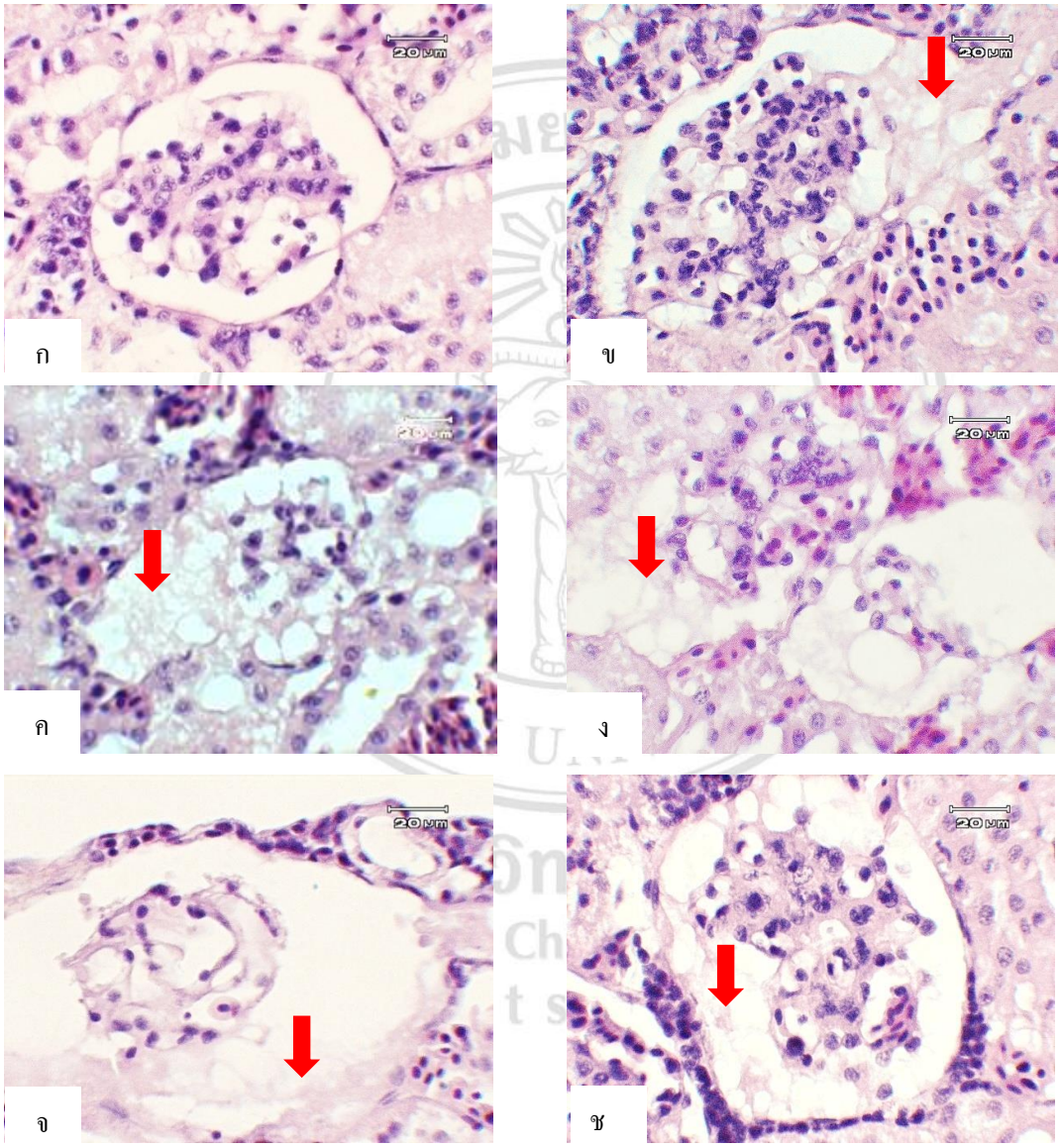
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาที่พบ

3.1.1 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของโกลเมอรูลัส

3.1.1.1 การสะสม amorphous substance ภายในโบว์แมนส์แคปซูล

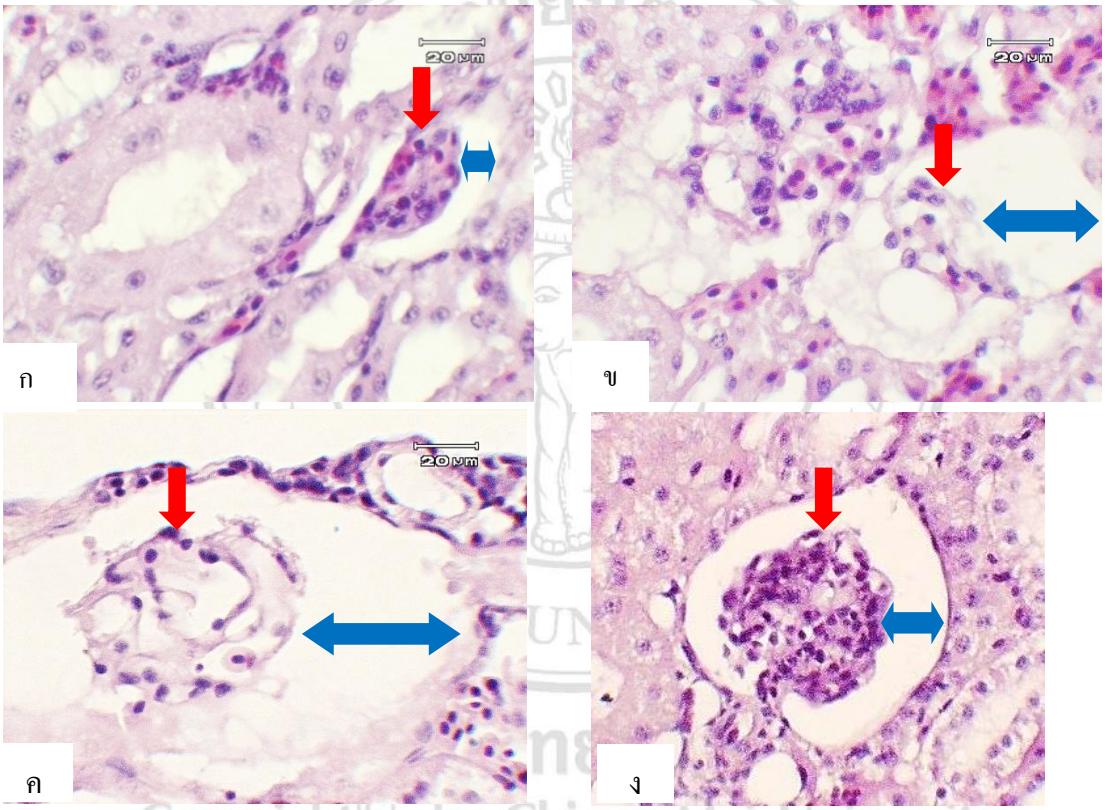
- กลุ่มที่ได้รับสารเคมีทั้งสองชนิดในทุกความเข้มข้นพบว่า มีการสะสม amorphous substance บริเวณที่ว่างระหว่างโบว์แมนส์แคปซูลและโกลเมอรูลัสซึ่งไม่พบในกลุ่มควบคุม (ภาพ 20)



ภาพ 20 ลักษณะโกลเมอรูลัสของตัวอ่อน *H. rugulosus* ในกลุ่มต่างๆ ที่กำลังขยาย 40X10(H&E) ;กลุ่มควบคุม (ก), กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2 (ข), 1(ค) และ 5 ppm (ง), กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 (จ) และ 1 ppm (ช) ลูกศรชี้แสดง Amorphous Substances ภายในโบว์แมนส์แคปซูล

3.1.1.2 โครงสร้างของโกลเมอรูลัส

ตรวจพบความผิดปกติของโกลเมอรูลัส คือ มีการสลายเกิดขึ้นซึ่งสังเกตได้จากการลักษณะในโกลเมอรูลัสที่เปลี่ยนรูปร่างหรือไม่มีการจัดจัดรูปร่างของโกลเมอรูลัสปกติ ซึ่งเป็นโกลเมอรูลัสในกลุ่มที่ได้รับสารไคโตซาน 5 ppm และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 ppm (ภาพ ก – ค) ทำให้ช่องว่างรอบโกลเมอรูลัสมีลักษณะกว้างกว่าปกติ เปรียบเทียบกับโกลเมอรูลัสในกลุ่มควบคุมที่มีลักษณะเป็นก้อนกลม (ภาพ ง) ดังภาพ 21

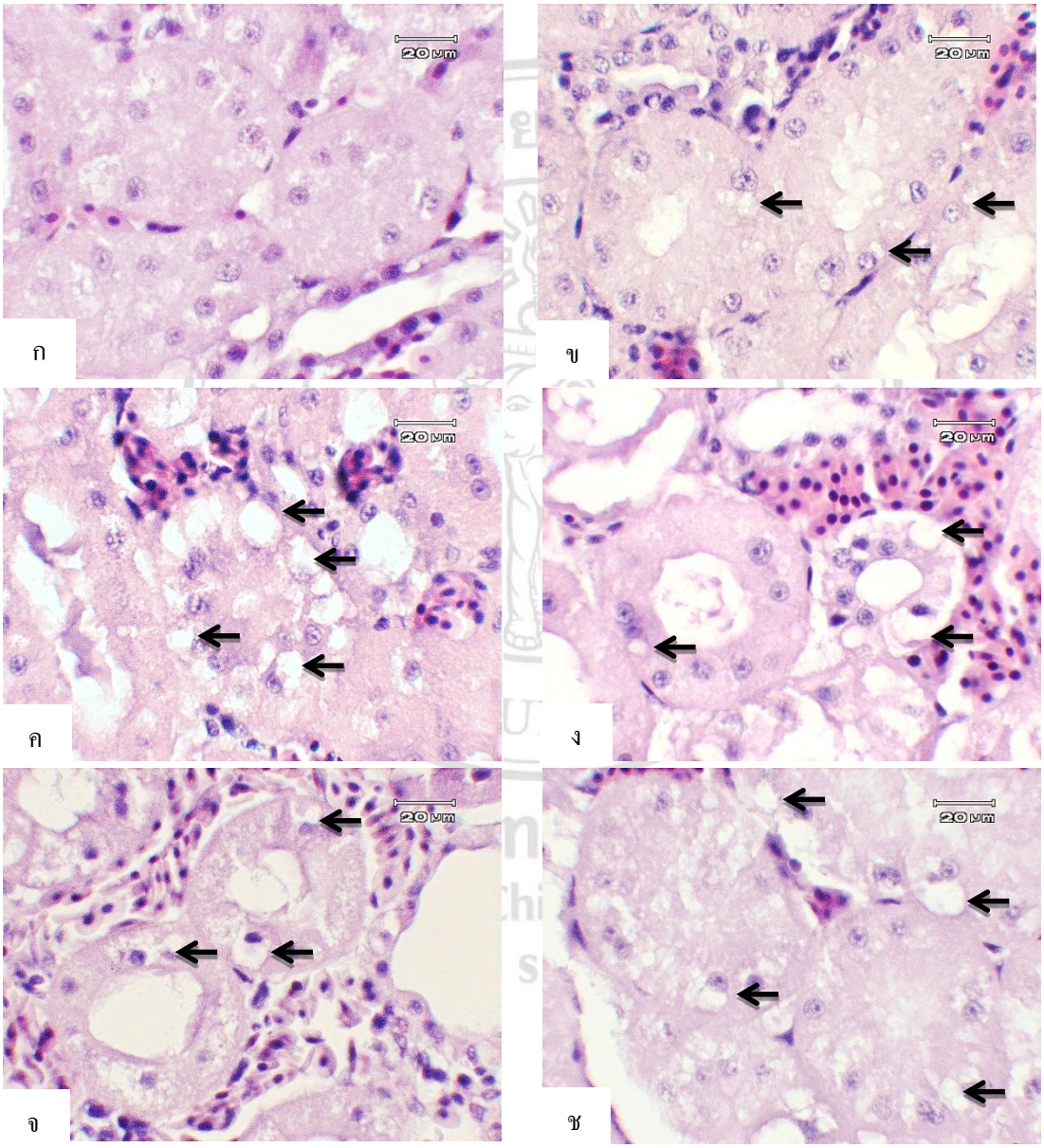


ภาพ 21 ลักษณะของโกลเมอรูลัสของตัวอ่อน *H. rugulosus* ที่เกิดการสลาย ที่กำลังขยาย 40X10 (H&E); กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 5 ppm (ก-ข), กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 ppm (ค), เปรียบเทียบกับลักษณะของโกลเมอรูลัสในกลุ่มควบคุม (ง) (ลูกศรสีแดงแสดงตำแหน่งของโกลเมอรูลัส; ลูกศรสีน้ำเงินแสดงความกว้างของที่ว่างระหว่างโบวแมนส์แคปซูลกับโกลเมอรูลัส)

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.2 พยาธิสภาพของท่อไต

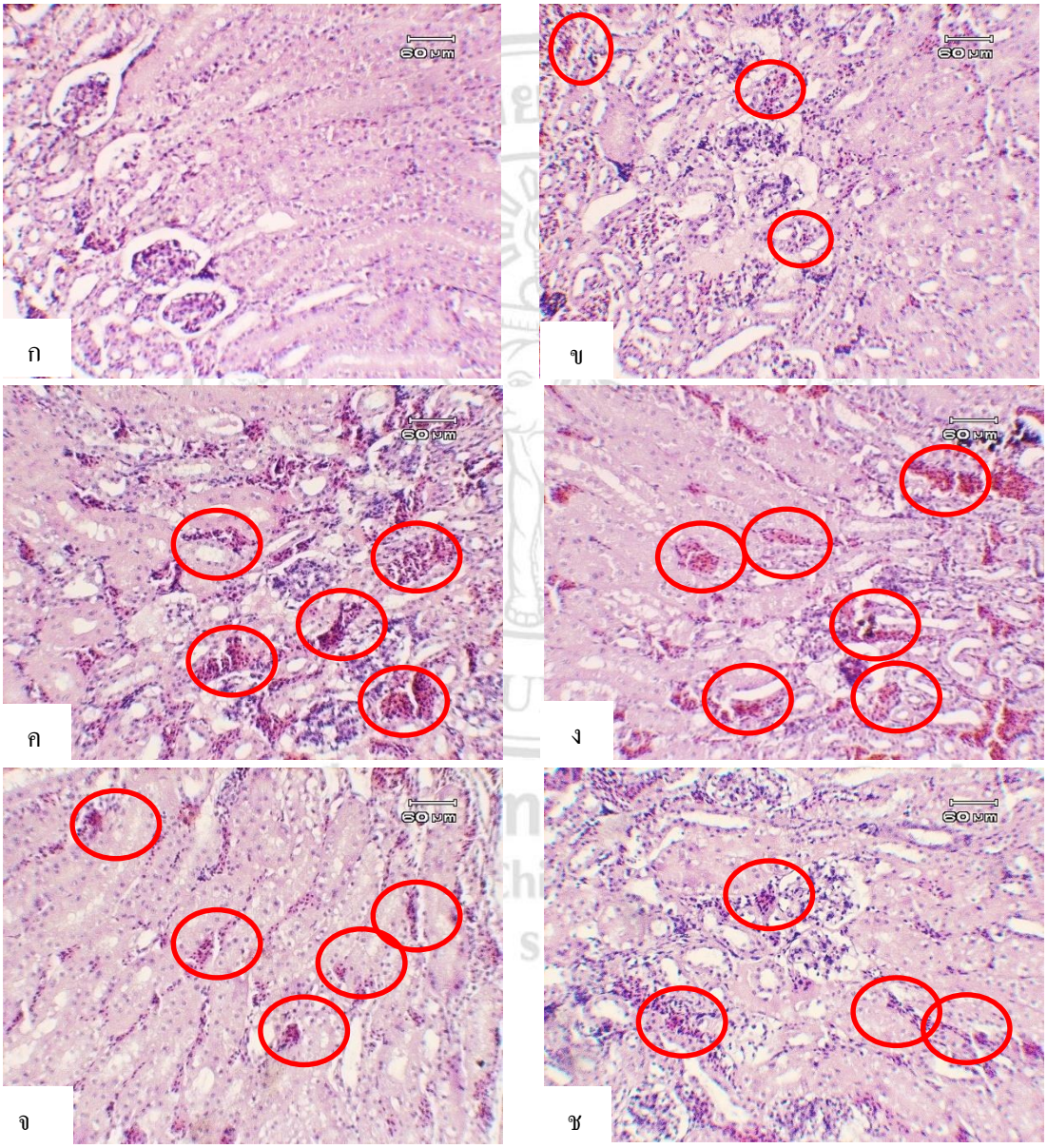
จากโครงสร้างทางเนื้อเยื่อของท่อไตพบแวคิวโอลในกลุ่มที่ได้รับสารเคมีทั้งสองชนิดทุกความเข้มข้น โดยพบแวคิวโอลขนาดใหญ่ในกลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 5และ 1 ppmและกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 1 และ 0.2 ppm นอกจากนี้ในกลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2 ppm ยังตรวจพบแวคิวโอลขนาดเล็ก (ภาพ 22)



ภาพ 22 ลักษณะของท่อไตของตัวอ่อน *H. rugulosus* ในกลุ่มต่างๆ ที่กำลังขยาย 40X10 (H&E); กลุ่มควบคุม (ก), กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2(ข), 1 ppm (ค) และ 5 ppm (ง), กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 (จ) และ 1 ppm(ช) (ลูกศรสีดำชี้แสดงแวคิวโอล)

3.1.3 ลักษณะอื่นๆ ที่ตรวจพบ

พบเซลล์เม็ดเลือดแดงแทรกอยู่ภายในเนื้อเยื่อไต โดยพบมากในกลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 5 และ 1 ppm และพบเล็กน้อยในกลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2 ppm และ กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์-เมทรินทั้งสองความเข้มข้น ขณะที่กลุ่มควบคุมพบเซลล์เม็ดเลือดแดงภายนอกเส้นเลือดน้อยมาก (ภาพ 23)



ภาพ 23 ลักษณะเลือดแดงที่แทรกในไตของตัวอ่อน *H. rugulosus*ที่กำลังขยาย 10X10 (H&E);กลุ่มควบคุม (ก), กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน 0.2 (ข), 1 (ค) และ5 ppm (ง), กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 0.2 (จ) และ 1 ppm (ช) (วงกลมสีแดง)

การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาที่ตรวจพบในเนื้อเยื่อไตของตัวอ่อน *H. rugulosus*สามารถสรุปได้ดังตาราง 5

ตาราง 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในเนื้อเยื่อไตของตัวอ่อน *H. rugulosus* โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน และกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ที่ความเข้มข้นต่างๆ

กลุ่มการทดลอง	การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาที่พบ			
	โกลเมอรูลัส		การเกิดถุงแวคิวโอลในท่อของหน่วยไต	ปริมาณเม็ดเลือดแดงที่พบ
	สลาย	การสะสมสารในโบว์แมนแคปซูล		
กลุ่มควบคุม	-	-	+	+
กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ความเข้มข้น 0.2 ppm	+	++	+++	++
กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ความเข้มข้น 1 ppm	++	+++	+++	+++
กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ความเข้มข้น 5 ppm	++++	++++	++++	++++
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ความเข้มข้น 0.2 ppm	+++	++	+	++
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ความเข้มข้น 1 ppm	+	+++	+++	+++
กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ความเข้มข้น 5 ppm	N/A	N/A	N/A	N/A

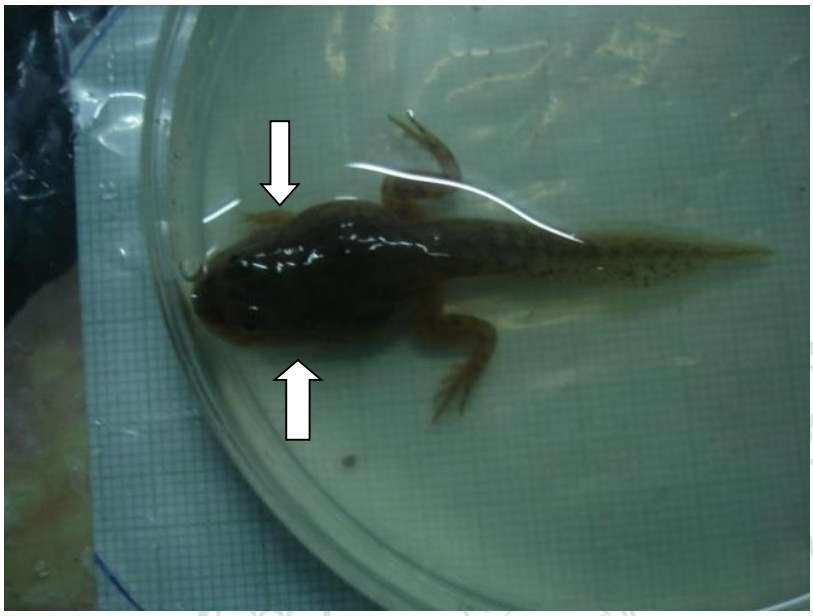
หมายเหตุ

+ น้อย ++ปานกลาง +++มาก ++++มากที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

(ก) การงอกรยางค์ที่ผิดปกติ



ภาพ 24 แสดงลักษณะของตัวอ่อนที่ได้รับไคโตซานเข้มข้น 1 ppm ที่มีการงอกของรยางค์คู่หน้าซีกขวาแล้วแต่ซีกซ้ายยังเป็นเพียงตุ่มนูนเท่านั้น (ลูกศรขาวแสดงตำแหน่งของรยางค์หน้า)

ภาพ 25 ลักษณะของตัวอ่อนที่ได้รับสารไซเปอร์เมทรินเข้มข้น 1 ppm ที่มีการงอกของรยางค์คู่หน้าซีกขวาแล้วแต่ซีกซ้ายยังเป็นเพียงตุ่มนูนเท่านั้น (ลูกศรขาวแสดงตำแหน่งของรยางค์หน้า)

5.สื่อการสอน

ในการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษามาจัดทำสื่อการสอนนั้น ได้จัดทำในรูปแบบบทปฏิบัติการที่มุ่งเน้นให้ผู้เรียนสามารถปฏิบัติได้ตนเองได้โดยง่าย สามารถใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ราคาไม่แพงและหาได้ง่ายในท้องถิ่น

5.1 การสร้างสื่อการสอนรูปแบบบทปฏิบัติการ

บทปฏิบัติการประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

- ส่วนบทนำ ซึ่งเป็นส่วนที่จะให้ความรู้พื้นฐานแก่นักเรียนและ กล่าวถึงความสำคัญของการศึกษา
- ส่วนวัสดุและวิธีการศึกษา
- ส่วนข้อมูลที่ต้องบันทึกผล ซึ่งประกอบด้วย
  - คำถามก่อนการทดลอง
  - ตารางบันทึกผล (ตัวอย่าง)
  - คำถามหลังการทดลองและการสรุปผล

5.2 การประเมินความพึงพอใจต่อการใช้สื่อ

จากการศึกษาผลความพึงพอใจกับบทบทปฏิบัติการ เรื่อง “การศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา” ในรูปแบบบทปฏิบัติการประกอบการสอนกับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นจำนวน 30 คนพบว่านักเรียนมีความพึงพอใจกับบทปฏิบัติการนี้ในระดับภาพรวมคือ4.12โดยนักเรียนพึงพอใจในด้านเนื้อหาที่ได้ประโยชน์จากการเรียนและนักเรียนเกิดทัศนคติที่ดีต่อการเรียน(ตาราง6)

ตาราง 6การประเมินความพึงพอใจของนักเรียนต่อบทปฏิบัติการเรื่องการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา

รายการประเมิน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ผลการประเมิน
1. ด้านเนื้อหา			
1.1 มีความถูกต้องสอดคล้องกับบทเรียน	4.21	±0.42	พึงพอใจมาก
1.2 การเรียงลำดับเนื้อหามีความเหมาะสม	4.02	±0.69	พึงพอใจมาก
1.3 เนื้อหามีความยากง่ายเหมาะสมกับนักเรียน	4.13	±0. 72	พึงพอใจมาก
1.4 นักเรียนได้พัฒนาทักษะกระบวนการทาง	4.52	±0.63	พึงพอใจมากที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รายการประเมิน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ผลการประเมิน
วิทยาศาสตร์			
1.5 นักเรียนเกิดความตระหนักถึงผลของการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช	4.00	±0.61	พึงพอใจมาก
2. ด้านการนำเสนอ			
2.1 รูปเล่มมีความน่าสนใจกระตุ้นการเรียนรู้	3.85	±0.52	พึงพอใจมาก
2.2 ระยะเวลาในการเรียนรู้มีความเหมาะสม	4.00	±0.20	พึงพอใจมาก
2.3 นักเรียนสามารถศึกษาได้ด้วยตนเอง	3.95	±0.79	พึงพอใจมาก
2.4 ใช้ภาษาเข้าใจง่าย	4.42	±0.48	พึงพอใจมาก
ค่าเฉลี่ย	4.12	±0.54	พึงพอใจมาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทปฏิบัติการ

สำหรับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา

นายไพฑูรย์ แสนจันต๊ะ
กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์

บทปฏิบัติการ เรื่อง

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา

(*Hoplobatrachus rugulosus*)

สำหรับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาอนต้น

กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์

ตัวชี้วัด

สาระที่ 2 ชีวิตกับสิ่งแวดล้อม

มาตรฐาน ว 2.1 เข้าใจสิ่งแวดล้อมในท้องถิ่น ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งแวดล้อมกับสิ่งมีชีวิต ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ในระบบนิเวศ มีกระบวนการสืบเสาะหาความรู้ และจิตวิทยาศาสตร์ สื่อสารสิ่งที่เรียนรู้และนำความรู้ไปใช้ประโยชน์

ว 2.1ม.3/4อธิบายปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของประชากรในระบบนิเวศ

มาตรฐาน ว 2.2 เข้าใจความหมายของทรัพยากรธรรมชาติ การใช้ทรัพยากรธรรมชาติในระดับท้องถิ่น ประเทศ และโลก นำความรู้ไปใช้ในการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมในท้องถิ่นอย่างยั่งยืน

ว 2.2ม.3/1วิเคราะห์สภาพปัญหาสิ่งแวดล้อมทรัพยากรธรรมชาติในท้องถิ่นและเสนอแนวทางในการแก้ไขปัญหา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จุดประสงค์การเรียนรู้

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา
2. บอกปัจจัยภายนอกที่อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนาในท้องถิ่นได้
3. เพื่อฝึกทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์

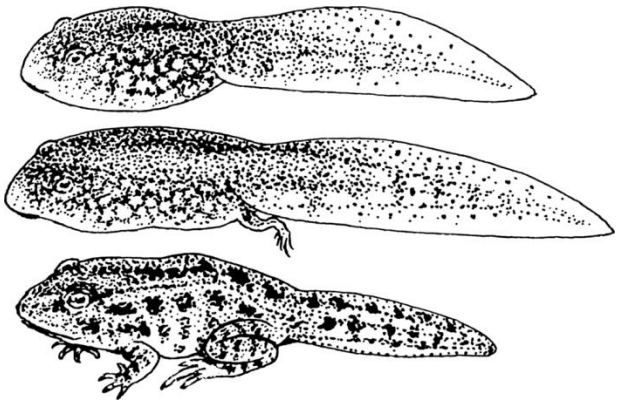
ที่มาและความสำคัญ

การเปลี่ยนรูปร่างของสิ่งมีชีวิตหรือ การเปลี่ยนสัณฐาน หรือ เมตามอร์โฟซิส (Metamorphosis) เป็นกระบวนการในการเจริญเติบโตของสัตว์รูปแบบหนึ่ง ที่เกิดหลังจากการคลอดหรือฟักออกจากไข่ โดยเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือรูปแบบร่างกายที่ก้าวกระโดดและเด่นชัด ซึ่งเป็นผลจากการเจริญเติบโตของเซลล์และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพื่อทำหน้าที่จำเพาะของเซลล์

โดยส่วนใหญ่ ในหลายขั้นตอนของการเปลี่ยนสัณฐาน จะเกิดขึ้นพร้อมกับการเปลี่ยนถิ่นที่อยู่และพฤติกรรมไปด้วย

การเจริญเติบโตแบบเปลี่ยนสัณฐานเกิดขึ้นในสัตว์บางชนิดในกลุ่ม สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก สัตว์ขาปล้อง (เช่น แมลงบางชนิดและ สัตว์ที่มีเปลือกแข็งหุ้ม) มอลลัสก์ ไนดาเรีย เอไคโนเดิร์ม และ เพรียงหัวหอม

การเปลี่ยนรูปร่างของ สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกเช่น กบนา เปลี่ยนแปลงระยะเดียวจาก ระยะตัวอ่อน สู่ระยะตัวเต็มวัย (ไม่มีการลอกคราบ และระยะดักแด้) เรียกระยะตัวอ่อนว่า ลูกอ๊อด



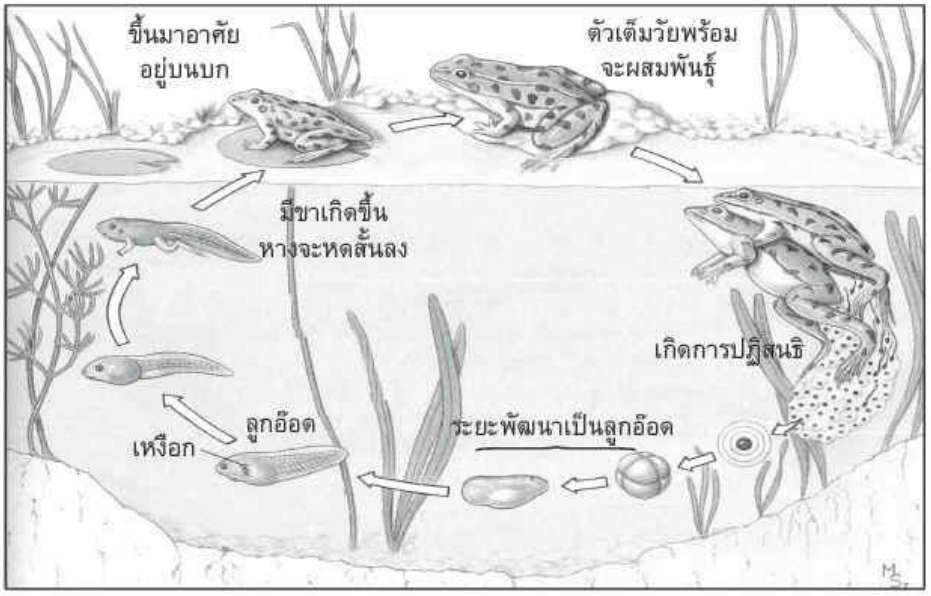
ภาพ 1 ขั้นตอนการเปลี่ยนสัณฐานของกบ

ทีมา : http://th.wikipedia.org/wiki/การเปลี่ยนสัณฐาน/File:Tadpole_(PSF).png

วงจรชีวิตของกบ วางไข่ในน้ำ ลูกอ๊อดจะเติบโต จนกว่าจะเริ่มการเปลี่ยนรูปร่าง ซึ่งเริ่มจากการพัฒนาขาหลัง ก่อนขาหน้า ปอดพัฒนาขึ้น และลูกอ๊อดเริ่มว่ายบริเวณพื้นผิวของน้ำเพื่อหายใจ ลำไส้สั้นลง เพื่อปรับให้เหมาะกับการกินเนื้อเป็นอาหาร และตาโปนขึ้นและย้ายค่อนไปทางด้านหลัง ส่วนใหญ่ (ยกเว้นซาลาแมนเดอร์) หางถูกย่อยและดูดกลืนหายไปในร่างกาย ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายของการเปลี่ยนรูปร่างดังนี้

ระยะตัวอ่อน รูปร่างของกบในระยะนี้จะแตกต่างจากระยะเจริญวัยอย่างมาก โดยมีรูปร่างและการดำรงชีวิตคล้ายปลา เรียกว่า ลูกอ๊อด หรือ Tadpole ส่วนลำตัวและหางแตกต่างกันอย่างชัดเจน ในระยะ

นี้จะอาศัยอยู่ในน้ำใช้เหงือกในการแลกเปลี่ยนก๊าซเป็นหลักซึ่งเมื่อเข้าสู่ระยะเจริญวัยมักจะหดหายไป และใช้ปอดในการหายใจแทน ในช่วงแรกยังไม่มีการเจริญเติบโตของรยางค์การเคลื่อนไหวอาศัยหาง ซึ่งมีโนโตคอร์ด (Notocord) เป็นแกนภายในทำหน้าที่ช่วยในการโบกพัดในทิศทาง ซ้าย – ขวา เป็นหลัก จากนั้นรยางค์คู่ท้ายของลำตัว (Hind limb) จึงเริ่มงอกออกมาก่อนอีกทั้งยังมีขนาดใหญ่และแข็งแรง ส่วนรยางค์คู่หน้า (Fore limb) ซึ่งมีขนาดเล็กและสั้นกว่าจะงอกออกมาภายหลังเมื่อหางหดสั้นลงมากจนมีรูปร่างคล้ายกับพ่อแม่ที่เจริญวัยในที่สุด (ภาพ 2) การเจริญเติบโตจากระยะตัวอ่อนโดยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนกระทั่งเหมือนระยะเจริญพันธุ์เช่นนี้ เรียกกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Metamorphosis)



ภาพ 2 การเจริญเติบโตของกบ

ที่มา : http://www.maceducation.com/e-knowledge/2422210100/13.htm

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

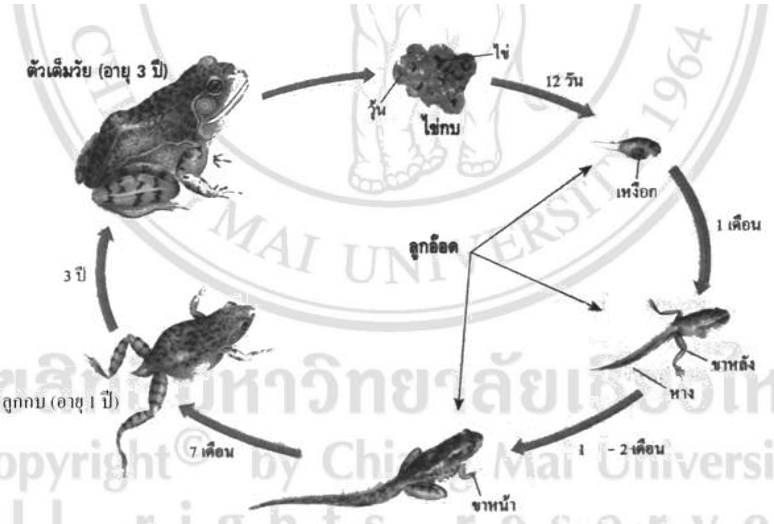
ระยะลูกกบ หรือ วัยรุ่น (Juvenile) จะมีรูปร่างลักษณะรวมทั้งแบบแผนการดำรงชีวิตที่เหมือนกับพ่อแม่ที่เจริญเต็มที่แล้วทว่ามีขนาดเล็กกว่า

ระยะเจริญพันธุ์ หรือ ผู้ใหญ่ (Adult) นอกจากสีสันหรือลักษณะจำเพาะตัวบางอย่างแล้ว สัตว์ตระกูลกบจะมีลักษณะร่วมซึ่งอาจแบ่งออกเป็นส่วนของหัวและลำตัว ดังนี้(ภาพ 3)

ส่วนหัว (Head) ส่วนหัวของกบมีลักษณะคล้ายสามเหลี่ยมแบน ส่วนหน้าสุดของหัวเป็นส่วนที่เปิดของช่องปาก (Mouth) ซึ่งเหนือขึ้นไปเล็กน้อยจะพบช่องเปิดของจมูก 1 คู่ (External

nares) ส่วนบนสดของหัวเป็นสันนูนของตา (Eye) กบมีตา 1 คู่หันออกด้านข้างลำตัว หนังตาบเคลื่อนที่ไม่ได้ แต่หนังตาล่างชั้นในสามารถเคลื่อนที่ได้มาปิดดวงตาเพื่อป้องกันอันตรายและรักษาความชื้น เรียก Nictitating membrane ด้านท้ายของหัว พบแผ่นเยื่อกลมที่เรียกว่า เยื่อแก้วหู (Tympanic membrane) โดยปราศจากใบหู ใต้คางอาจพบถุงกล่องเสียง (Vocal sac) ซึ่งปรากฏในเฉพาะเพศผู้และจะเด่นชัดเมื่อถึงฤดูกาลผสมพันธุ์ โดยมากจะเห็นเป็นผนังบางย่นสีคล้ำ

ส่วนลำตัว (Body) กบที่โตเต็มวัยมักจะไม่ปรากฏลักษณะของหาง ส่วนของลำตัวโค้งงอและสั้นไม่ปรากฏชัดเจน กบมีรยางค์ขา 2 คู่ โดยคู่ทางด้านซ้ายลำตัวจะมีขนาดใหญ่และแข็งแรง เป็นผลมาจากการยืดยาวของกระดูก ทิบิโอฟิบูลา (Tibio-fibula) (ภาพ 4) และการเชื่อมรวมกับกระดูก แอสทรากาลัส (Astragalus) และคัลคาเนียม (Calcaneum) ซึ่งส่งเสริมการกระโดดอันเป็นการเคลื่อนที่หลักของกบ ในขณะที่รยางค์คู่หน้ามีบทบาทในการทรงตัวและรองรับน้ำหนักของส่วนหัว กบมีนิ้วเท้าหน้า 4 นิ้ว โดยนิ้วที่ 5 มักจะลดรูปเหลือเพียงแค่ติ่งเล็ก ๆ หรือไม่ปรากฏเลย ในขณะที่นิ้วเท้าหลัง มักปรากฏครบทั้ง 5 นิ้ว ระหว่างทั้ง 5 นิ้วมีพังผืดช่วยในการกระโดด ร่อนและว่ายน้ำ



ภาพ 3 ระยะเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนาแต่ละช่วง

ที่มา : http://www.surin1.js.ac.th/surin/animal/animal/1Animal/image052.gif

โดยภาพรวมแล้ว กบนาจะใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างทั้งสิ้น 1- 2 เดือน นับตั้งแต่วันที่แม่กบวางไข่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นักเรียนคิดว่าในท้องถิ่นนักเรียน กบนาจะใช้ระยะเวลาการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นไปตามนี้หรือไม่ มีปัจจัยอื่นใดอีกบ้างที่จะส่งผลต่อระยะเวลาของการเจริญเติบโตของกบนา

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

- อุปกรณ์

1. ภาชนะสำหรับใส่ตัวอ่อนของกบที่จับได้
2. สวิงสำหรับตักตัวอ่อนกบ
3. แว่นขยาย
4. ไม้บรรทัด หรือ กระดาษกราฟสำหรับวัดความยาว
5. แบบจดบันทึก
6. Quadrat ขนาด 50x50ตารางเซนติเมตร หรือ เชือกฟางสำหรับขึงกำหนดขอบเขตการนับ

- วิธีการ

นักเรียนสำรวจการเจริญของตัวอ่อนกบนา โดยดำเนินการดังนี้

1. เลือกพื้นที่ที่สำรวจ โดยเป็นพื้นที่ที่อยู่ในท้องถิ่นนักเรียน และมีตัวอ่อนกบนาอยู่
2. บันทึกลักษณะภูมิประเทศของบริเวณที่สำรวจ และลักษณะทางกายภาพทั่วไป รวมถึงพืชขึ้นอยู่บริเวณนั้น
3. เลือกพื้นที่ที่จะนับตัวอ่อนของกบนา โดยกำหนดพื้นที่ที่จะศึกษาให้มีขนาด 1x1 ตารางเมตร ใช้ Quadrat หรือ ขึงเชือกฟางให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 50x50ตารางเซนติเมตร เพื่อกำหนดขอบเขตสำหรับการนับ
4. นับตัวอ่อนกบนา ทั้งหมด (total) ในขอบเขต และจำแนกตัวอ่อนกบนา เป็นกลุ่ม ๆ ดังนี้

- ตัวอ่อนกบนาระยะมีหางไม่มีรยางค์(tail)
- ตัวอ่อนกบนาระยะมีหาง มีรยางค์หลัง(h-limb)
- ตัวอ่อนกบนาระยะมีหาง มีรยางค์หน้าและหลัง(f-limb)
- ตัวอ่อนกบนาระยะไม่มีหาง มีรยางค์หน้าและหลัง(comp.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. นับตัวอ่อนกบนาในพื้นที่ที่กำหนดทุก 3 วัน จนกระทั่งตัวอ่อนกบนาเปลี่ยนรูปร่างอยู่ในระยะไม่มีหาง มีรยางค์หน้าและหลังทั้งหมด

6. ในแต่ละครั้งของการนับจำนวน ให้สุ่มตัวอ่อนกบนามาวัดความยาวของลำตัวและหาง โดยใช้วิธีการจับแล้วปล่อย จำนวน ไม่น้อยกว่า 10 ตัว หาค่าเฉลี่ยของความยาวของลำตัวและหางในแต่ละครั้ง

คำถามก่อนการศึกษา

1. พื้นที่ที่นักเรียนเลือกศึกษามีการใช้สารเคมีทางการเกษตรหรือไม่

.....

2. สารเคมีทางการเกษตรดังกล่าวมีอะไรบ้าง และหลักมีวัตถุประสงค์หลักอย่างไรบ้าง

.....

.....

.....

.....

3. นักเรียนคิดว่า การใช้สารเคมีดังกล่าวจะส่งผลต่อการเจริญของกบนาในพื้นที่ที่นักเรียนศึกษาหรือไม่อย่างไร

.....

.....

.....

.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. นักเรียนคิดว่า ตัวอ่อนของกบจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นไปตามที่นักเรียนได้เรียนรู้มาหรือไม่

.....

.....

ตารางบันทึกผล (ตัวอย่าง)

สถานที่ศึกษา……

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนตัวอ่อนที่ในระยะต่าง ๆ

วันที่ตรวจนับ	tail	h-limb	f-limb	complete	total

ตารางที่ 2แสดงความยาวของลำตัวและหางของตัวอ่อนกบในวันที่ตรวจนับ

วันที่ตรวจนับ (ครั้งที่ .....)		
ที่	ความยาวลำตัว (cm.)	ความยาวหาง (cm.)
1		
2		
3		
.		
.		
เฉลี่ย		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คำถามหลังการศึกษา

1. ตัวอ่อนกบนาที่นักเรียนศึกษา มีลำดับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างไรบ้าง

.....

.....

.....

.....

2. การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนกบเป็นไปตามที่นักเรียนคาดเดาหรือไม่ อย่างไร

.....

.....

.....

3. จากข้อมูลที่ได้ นักเรียนคิดว่าเป็นเพราะสาเหตุใด

.....

.....

.....

สรุปผลการศึกษา

.....

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. จากศึกษาดังกล่าว นักเรียนคิดว่า การใช้สารเคมีดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อวงจรชีวิตกบหรือไม่ อย่างไร

.....

.....

.....

.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การเปลี่ยนแปลงของวงจรชีวิตกบที่เกิดขึ้น ส่งผลกระทบต่อสัตว์ชนิดอื่น หรือไม่ อย่างไร

.....

.....

.....

.....

3. การเปลี่ยนแปลงของวงจรชีวิตกบที่เกิดขึ้น ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของคนในท้องถิ่นหรือไม่อย่างไร

.....

.....

.....

4. นักเรียนจำมีวิธีการสร้างความตระหนักให้คนในท้องถิ่นทราบถึงสิ่งที่จะเกิดขึ้นอย่างไรบ้าง

.....

.....

.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

จากการรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลการรอดชีวิต การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงรูปร่างตลอดจนจุลกายวิภาคของไต สามารถอภิปรายผลการศึกษาได้ดังนี้

การรอดชีวิต

จากข้อมูลการรอดชีวิตสะสมของตัวอ่อนกบนาพบว่า กลุ่มควบคุมมีตัวอ่อนที่รอดชีวิตจนสิ้นสุดการทดลองมากที่สุด ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับไคโตซานและไซเปอร์เมทรินมีการรอดชีวิตสะสมลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบการรอดชีวิตของกลุ่มที่ได้รับสารเคมีทั้งสองชนิดพบว่า กลุ่มที่ได้รับไคโตซานมีการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันในทุกความเข้มข้น แต่กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินกลับมีการรอดชีวิตลดลงตามความเข้มข้นที่สูงขึ้นของสารเคมี

กลุ่มควบคุม

แม้กลุ่มควบคุมจะมีการรอดชีวิตของกบนาเมื่อสิ้นสุดการทดลองเพียงร้อยละ 78.57 แต่พบว่าการตายส่วนใหญ่ของสัตว์ทดลองปรากฏในช่วงอายุ 18 – 21วัน ซึ่งเป็นช่วงวิกฤตของการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยในช่วงนี้สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจะอ่อนแอที่สุด (วีรยุทธ์, 2552) โดยเมื่อตรวจสอบรายงานการศึกษาต่างๆ ในกบนาพบการตายของกลุ่มควบคุมในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน เช่น Trachantong *et al.*(2013) พบการตายของกลุ่มควบคุมปกติร้อยละ 20 และ กฤษฎา (2551) พบการตายของกลุ่มควบคุมถึงร้อยละ 40 จึงอาจสรุปได้ว่าการตายของกบนาในกลุ่มควบคุมนั้นเป็นการตายที่เกิดขึ้นตามปกติจากความอ่อนแอของสัตว์ทดลองในระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและอยู่ในระดับที่สามารถยอมรับได้

กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน

เนื่องจากไซเปอร์เมทรินเป็นสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อกำจัดแมลงทำให้มีการศึกษาความเป็นพิษของสารดังกล่าวเพื่อประเมินระดับความปลอดภัยในการนำไปใช้ อย่างไรก็ตามพบว่ารายงานการศึกษาส่วนมากมุ่งเน้นการศึกษาความเป็นพิษในปลาน้ำจืดมากกว่าสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก โดย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พบว่าปลาดุกแอฟริกา*Clariasgariepinus* มีค่า LC_{50}ที่ 96 ชั่วโมง ที่ 0.063 ppm (Ayoola *et al.*, 2010) ในขณะที่ตัวอ่อนของปลา *Heteropneustes fossilis* (Saha and Kaviraj, 2003) และ *Oncorhynchus mykiss* (Velisek*et al*., 2010) กลับมีค่า LC_{50}ที่ 96 ชั่วโมง เพียง 0.046 ppm และ 0.0314 ppm ตามลำดับ อย่างไรก็ดีรายงานการศึกษาความเป็นพิษของไซเปอร์เมทรินต่อสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลับมีความแปรผันกว่าปลามาก โดยการศึกษาของ Cole and Casida (1983) ซึ่งให้ไซเปอร์เมทรินแก่ *Rana pipiens* ในระยะต่างๆ โดยใช้วิธีฉีดเข้าใต้ผิวหนังพบว่า กบในระยะโตเต็มวัยจะมีค่า LD_{50}ที่ 24 ชั่วโมง ประมาณ 0.16-0.65 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักตัว ในขณะที่ตัวอ่อนจะมีค่าประมาณ 0.04-0.2 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักตัว ในปี 2008 การศึกษาของ Saha and Kaviraj พบว่าค่า LC_{50}ที่ 96ชั่วโมง ของตัวอ่อน *Bufo melanostictus* มีค่า 0.006-0.009 ppm ซึ่งพบว่าต่ำกว่าตัวอ่อนของกบ *Physalaemus biligonigerus* กว่า 14 เท่า (Izaguirre*et al*., 2000) อย่างไรก็ตาม Agostini*et al.* (2010) พบว่า ตัวอ่อนของเขียด *Hypsibo aspulchellus* กลับมีค่า LC_{50}ที่ 96 ชั่วโมง สูงถึง 0.1752-0.4797 ppm แม้ว่าความเป็นพิษของไซเปอร์เมทรินจะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์และช่วงอายุของสัตว์ทดลอง แต่จะสังเกตุได้ว่า การศึกษาต่างๆ พบค่า LC_{50}ที่ 96 ชั่วโมง อยู่ในระดับต่ำกว่า 0.5 ppm ทั้งสิ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าความเข้มข้นของไซเปอร์เมทรินที่ 0.2 ppm ทำให้เกิดการตายของตัวอ่อนถึงร้อยละ 50 และที่ความเข้มขึ้น 1 ppm ตัวอ่อนเพียงร้อยละ 16.67 เท่านั้นที่สามารถรอดชีวิตได้ และพบว่าตัวอ่อนทั้งหมดไม่สามารถรอดชีวิตได้ที่ความเข้มข้น 5 ppm แม้ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของไซเปอร์เมทรินต่อกบนา แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้ก็แสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษของไซเปอร์เมทรินอย่างรุนแรงต่อกบนาซึ่งเป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกประจำถิ่นซึ่งพบได้ในทั่วทุกภูมิภาคของไทย

กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน

สำหรับไคโตซานนั้นเป็นสารที่มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งเพื่อการดูดซับสารพิษและโลหะหนัก ตลอดจนใช้เพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชทำให้การศึกษาความเป็นพิษที่ผ่านมาของไคโซซานมุ่งเน้นไปที่แมลงต่างๆ อาทิ ตัวอ่อนของ *Spodoptera littoralis* ซึ่งมีค่า LD_{50}ที่ 0.32 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (Rabea *et al.*, 2005) และ *Daphnia magna* ซึ่งมีค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง เป็น 20.09 ppm อย่างไรก็ตามความเป็นพิษของไคโตซานกลับสูงขึ้นอย่างมากในสัตว์น้ำที่มีกระดูกสันหลัง โดยรายงานของ Waller *et al*. (1993) ระบุว่าค่า LC_{50}ที่ 96 ชั่วโมงของปลา *Ictalurus punctatus* กลับมีค่าเพียง0.0645 ppm เช่นเดียวกับปลา *O.mykiss* ซึ่งพบว่าค่า LC_{50}ที่ 96 ชั่วโมง ที่เพียง 0.044 ppm

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(Bullock *et al*., 2000) ซึ่งต่ำกว่าแมลงน้ำอย่าง *D. magna* อย่างเห็นได้ชัด ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นของไคโตซานที่ 0.2 ppm ถึง 5 ppm ทำให้เกิดการตายของกบนาในช่วงร้อยละ 37.50 ถึง 50.00 ซึ่งแม้จะเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่า LC_{50} ของ *I. punctatus* และ *O. mykiss* แต่ก็ต่ำกว่าค่า LC_{50} ของ *D. magna* อย่างมากแม้การศึกษาในครั้งนี้จะไม่สามารถระบุค่า LC_{50} ของไคโตซานต่อกบนาได้อย่างชัดเจน แต่ก็แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มทางพิษวิทยาของไคโตซานต่อสัตว์มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในปลาทั้งสองสายพันธุ์ จึงควรมีการศึกษาอย่างจริงจังเกี่ยวกับความเป็นพิษเฉียบพลันของไคโตซานต่อสัตว์มีกระดูกสันหลังทั้งบนบกและในน้ำชนิดอื่นเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต เพื่อจะได้ตัดสินต่อไปว่าสมควรใช้ต่อไปหรือไม่ หรือหากมีการใช้ต่อไปควรใช้อย่างไรที่จะเกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

การเติบโตและเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

การเติบโต

ในการตรวจสอบการเจริญเติบโตของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ในระหว่างกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างนั้น นิยมสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงความยาวลำตัว โดยวัดตั้งแต่ปลายจมูกไปจรดทวารหนัก (Snout-Vent Length, SVL) เนื่องจากในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างนั้นหางของตัวอ่อนจะมีการยืดยาวออกไปจนกระทั่งถึงระยะวิกฤตของการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ซึ่งหางของตัวอ่อนในอันดับ ANURAN จะถูกย่อยสลายจนหดหายไปในที่สุด ในขณะที่ความยาวลำตัวนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (วีรยุทธ์, 2552) โดยในการศึกษาครั้งนี้พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงความยาวลำตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้งไคโตซานและไซเปอร์เมทรินในทุกความเข้มข้นไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนกบนา อย่างไรก็ตามพบว่าสารกำจัดแมลงหลายชนิดแม้จะมีผลต่อการตายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอย่างชัดเจนแต่กลับไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง เช่นการศึกษาของ Jayatillake *et al*. (2011) พบว่าสารคาร์โบฟูแรน (Carbofuran) ที่ความเข้มข้น 250 ppbมีผลทำให้ตัวอ่อนของคางคก *Duttaphrynus melanostictus* ตายถึงร้อยละ 63 แต่กลับไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความยาวลำตัว เช่นเดียวกับรายงานของ Bacchetta *et al*. (2008) ซึ่งทำการตรวจสอบความเป็นพิษของคาร์บาริล (Carbaryl) ต่อเอมบริโอของ *X. laevis* พบว่าที่ความเข้มข้น 24 ppm ทำให้เกิดการตายถึงร้อยละ 75.6 แต่ไม่พบผลกระทบต่อการเจริญเติบโต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

แม้การเปลี่ยนแปลงความยาวลำตัวของกบนาในแต่ละกลุ่มการทดลองจะไม่แตกต่างกันแต่การพัฒนารูปร่างของตัวอ่อนสู่ระยะโตเต็มวัยกลับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มการทดลอง โดยพบว่าไคโตซานมีผลให้ตัวอ่อนใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างมากขึ้นตามความเข้มข้น ในขณะที่ไซเปอร์เมทรินกลับมีผลให้ตัวอ่อนใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างมากขึ้น

กลุ่มที่ได้รับไคโตซาน

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนกบนาในกลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ตัวอ่อนกบนาจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างพร้อมกับกลุ่มควบคุม คือ ในวันที่ 9 ของการทดลอง แต่เมื่อมีการเข้าสู่ระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเข้าสู่ กลุ่มที่ได้รับไคโตซานทุกความเข้มข้นจะเข้าสู่ระยะไร้หางมีรยางค์จนหมดก่อนกลุ่มควบคุม ดังนี้ กลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 5 ppm เข้าสู่ระยะไร้หางจนหมดในวันที่ 21 ของการทดลอง ส่วนกลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2 และ 1.0 ppm เข้าสู่ระยะไร้หางจนหมดพร้อมกันคือในวันที่ 24 ของการทดลอง ซึ่งทั้งสามกลุ่มเร็วกว่ากลุ่มควบคุม คือในวันที่ 28 ของการทดลอง เป็นที่น่าสังเกตว่า ความเข้มข้นของไคโตซานที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนกบนาเข้าสู่ระยะไร้หางมีรยางค์เร็วขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ วุฒิ (2548) ได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของจุลินทรีย์อีเอ็มต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา โดยใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 ซึ่งพบว่าระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์อีเอ็มมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างตัวอ่อนกบนาเร็วขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับสารเคมีอื่นที่รายงานถึงการเร่งการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอื่นนั้น ได้มีรายงานการศึกษาในการอะเซทโตคลอร์ (Acetochlor) ใน *R. pipiens* พบว่า อะเซทโตคลอร์เร่งให้เกิดการเจริญของขาหน้าและเข้าสู่ระยะไร้หางมีรยางค์หน้าหลังอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากอะเซทโตคลอร์นั้นทำงานร่วมกับ T3 จึงทำให้ตัวอ่อนกบมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างรวดเร็ว (Cheek *et al.,* 1999) นอกจากนี้ Veldhoen *et al*. (2006) ได้ศึกษาผลกระทบของสารไตรโคลซาน (Triclosan) สารกำจัดแบคทีเรียที่เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เช่นแชมพู สบู่ ซึ่งมักจะปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อมในระหว่างการจากการซักล้าง พบว่ามีโครงสร้างคล้ายคลึงกับไทรอยด์ฮอร์โมน จึงมีผลให้เกิดการเจริญของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกเร็วกว่าปกติ Singha *et al.* (2014) ได้รายงานใน *R. limnocharis* ที่ได้รับสารหนูที่มีโซเดียมเป็นองค์ประกอบ พบว่า ความเข้มข้นที่เพิ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สูงขึ้นมีผลทำให้ตัวอ่อนของ *R. limnocharis* เปลี่ยนแปลงรูปร่างเร็วขึ้นก่อนกำหนด ซึ่งเป็นผลมาจากการการที่ อาร์เซนิกไอออน เลียนแบบรูปร่างของสารประกอบไอโอดีนในต่อมไทรอยด์ จากข้อมูลการศึกษาดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่า ไคโตซานเองนั้นอาจไปมีผลทำให้ไทรอยด์ฮอร์โมนทำงานได้ดีขึ้น จึงทำให้ตัวอ่อนในการศึกษาครั้งนี้เจริญเติบโตเร็วกว่าปกติ

กลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน

ที่ความเข้มข้นของไซเปอร์เมทริน1 ppm พบว่าตัวอ่อนใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมในขณะที่ความเข้มข้น 0.2 ppm กลับใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนที่ได้รับไซเปอร์เมทริน 1 ppm อาจเป็นผลมาจากความคลาดเคลื่อนในการวิจัย เพราะตัวอ่อนในกลุ่มนี้สามารถรอดชีวิตได้จนสิ้นสุดการทดลองเพียงสองตัวเท่านั้น ดังนั้นข้อมูลดังกล่าวอาจไม่มีความเหมาะสมสำหรับใช้อ้างอิงผลกระทบที่จะเกิดขึ้นจริงในตัวอ่อนกบนา จึงควรมีการศึกษาในกลุ่มประชากรที่มีขนาดใหญ่ขึ้น หรือ ใช้ความเข้มข้นที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของไซเปอร์เมทรินที่ตรวจพบจริงในสิ่งแวดล้อม แต่เป็นที่น่าสังเกตสำหรับการเปลี่ยนแปลงความยาวของหางของตัวอ่อนกบนาในกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินทั้งสองความเข้มข้น สำหรับช่วงวันที่ 9 - 13 ของการทดลองความยาวหางของตัวอ่อนกบยังคงเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเริ่มหดสั้นลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 16 ของการทดลอง ดังนั้นในที่นี่จะขอกล่าวถึงเพียงกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินที่ความเข้มข้น 0.2 ppm ซึ่งมีประชากรมากเพียงพอจะใช้อ้างอิงข้อมูลต่อไปได้ ซึ่งพบว่าในกลุ่มนี้เข้าสู่ระยะมีหางมีรยางค์สองคู่ช้ากว่ากลุ่มอื่น ๆ และเข้าสู่ระยะไร้หางมีรยางค์หน้าหลังจนหมดในวันที่ 31 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่าไซเปอร์เมทรินนั้นมีผลทำให้ตัวอ่อนกบชะลอการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง สอดคล้องกับการศึกษาผลกระทบของสารเคมีทางการเกษตรชนิดอื่น ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก เช่น การใช้สารหนูที่มีความเข้มข้นต่ำ (ระหว่าง 0.1 – 1.0 ไมโครโมล) ในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานของตัวรับสัญญาณฮอร์โมนไทรอกซิน (Darvey *et al.,* 2008) สำหรับสารอะทราซีน (Atrazine) จากการศึกษาของ Coady *et al.* (2004) ซึ่งทำการทดลองใน *Rana clamitans* โดยให้สารอะทราซีน ความเข้มข้น 10 ppm ในระยะเวลา 273 วัน พบว่าตัวอ่อนที่ได้รับสารอะทราซีนมีระยะเวลาการเป็นตัวอ่อนสั้นกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองใน *B. americanus* โดยใช้ความเข้มข้น สามระดับ ได้แก่ 250, 500, 1,000 ppm เป็นระยะเวลาสามสัปดาห์ พบว่าทั้งสามระดับความเข้มข้นล้วนมีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(Freeman *et al*., 2005) เช่นเดียวกับการทดลองใน *A. maculatum* ที่ได้รับอะทราซีนความเข้มข้น 200 ppm ก็มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง (Boone and James, 2003) แสดงให้เห็นว่าสารอะทราซีนแม้ปริมาณน้อยก็จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกเช่นกัน นอกจากสารเคมีข้างต้นแล้วยังมีการศึกษาสารเคมีที่มีคุณสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์ T4 คือ เปอร์คลอเรต (Perchlorate) ซึ่งผลการศึกษาพบว่าเปอร์คลอเรตรบกวนกระบวนการดูดซึมไอโอไดด์ของเซลล์ในต่อมไทรอยด์ ทำให้การสังเคราะห์ T4 และ T3 ลดลง ดังนั้นการให้แอมโมเนียมเปอร์คลอเรตจึงมีผลทำให้รยางค์หน้าของตัวอ่อนกบไม่พัฒนา (Goleman *et al*., 2002) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Tietge *et al.* (2005) ที่ใช้โซเดียมเปอร์คลอเรต ใน *X. laevis* ก็ไปยับยั้งการสังเคราะห์ T4 และมีผลทำให้เกิดความผิดปกติที่ต่อมไทรอยด์อีกด้วย นอกจากนี้ผลการศึกษาของ Gutleb *et al*. (2000) ยังชี้ให้เห็นว่าเมื่อให้โพลีคลอริเนตไบฟีนิล (Polychlorinate biphenyl) แก่ *Xenopus laevis* และ *Rana temporari* พบว่า มีผลทำให้ระยะเวลาการเข้าสู่การเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพิ่มมากขึ้น และตรวจพบว่าระดับของ T4 นั้นลดลง นอกจากการเปลี่ยนแปลงของ T4 ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแล้ว ในการศึกษาของ Iwamuro *et al*. (2003) ได้แสดงให้เห็นว่าไบสฟีนอล เอ (Bisphenol A) มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อน *X. laevis* ช้าลงเนื่องจากยับยั้งการทำงานของตัวรับสัญญาณของไทรอยด์ฮอร์โมน จะเห็นได้ว่า จากตัวอย่างการศึกษาดังกล่าวนั้น สอดคล้องกับผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ดังนั้น จึงอาจเป็นไปได้ว่า ไซเปอร์เมทรินที่นั้นมีผลต่อการทำงานของไทรอยด์ฮอร์โมน อาจจะในรูปแบบการลด T4 ลง หรือ ยับยั้งตัวรับสัญญาณของไทรอยด์ฮอร์โมน ซึ่งจะต้องมีการศึกษาอย่างละเอียดต่อไปในอนาคต

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ทั้งไคโตซานและไซเปอร์เมทรินมีแนวโน้มที่จะมีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนกบนา ซึ่งมีผลทั้งชะลอการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และการเร่งการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงแปลงรูปร่างที่เร็วขึ้นของกบนาในกลุ่มที่ได้รับสารทั้งสองประเภทที่เกิดขึ้นเร็วกว่ากลุ่มควบนั้นอาจเป็นผลมาจากการปรับตัวเพื่อหลีกหนีจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เช่น กรณีที่สระน้ำกำลังแห้ง ลูกอ๊อดจะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเร็วขึ้น ก่อนที่น้ำในสระจะแห้งเสียก่อน (Morey และ Reznick, 2004) ทั้งนี้เพราะ ความเสี่ยงภายหลังจากการเปลี่ยนรูปร่างเป็นกบตัวเต็มวัยที่สามารถอาศัยทั้งบนบกและในน้ำนั้นมีน้อยกว่าการดำรงชีวิตในน้ำเพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจทำให้ขาดแคลนอาหารหรือขาดแคลนที่อยู่อาศัย ซึ่งจัดเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ตัวอ่อนกบเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากนี้การที่ตัวอ่อนกบนาอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม คือ อาจทำให้ตัวอ่อนกบนาเกิดความเครียด และอาจเนื่องมากจากความผิดปกติของอวัยวะภายในร่างกายของกบเอง (Wilbur and Collin, 1973)

การศึกษาทางกายจุลกายวิภาคของไตกบ

จากการศึกษาพยาธิสภาพในไตของกบ ตรวจพบความผิดปกติในสองบริเวณ ได้แก่

1. บริเวณโกลเมอรูลัส

จากการศึกษาพบว่า ภายในโกลเมอรูลัสในกบทดลองมีการสะสมสาร amorphous substances โดยจะพบในทุกกลุ่มการทดลองทั้งในกลุ่มที่ได้รับไคโตซานและ ไซเปอร์เมทริน และพบว่าการเพิ่มขึ้นของสารดังกล่าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มของไคโตซานและไซเปอร์เมทรินที่ได้รับ

นอกจากนี้ยังตรวจพบว่ามีการสลายของโกลเมอรูลัสในกลุ่มที่ได้รับสารไคโตซานความเข้มข้น 5ppm แสดงให้เห็นว่า ไคโตซานที่ความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มทำให้โกลเมอรูลัสเกิดการสลายได้มากขึ้น สำหรับกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทริน ตรวจพบว่าที่ความเข้มข้น 0.2 ppm เกิดการสลายบ้างเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามยังไม่อาจสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของไซเปอร์เมทรินที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อการสลายตัวของโกลเมอรูลัส ทั้งนี้เพราะกบทดลองที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 1 ppm นั้นมีจำนวนตัวอย่างเพียงแค่สองตัวอย่างซึ่งน้อยเกินไปจนไม่สามารถตรวจพบได้ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบขนาดของ โกลเมอรูลัสในกลุ่มข้างต้นกับกลุ่มควบคุม จะเห็นได้ว่า ลักษณะของโกลเมอรูลัสของกลุ่มที่ได้รับสารทั้งสองชนิดข้างต้นนั้นจะบางไม่หนาแน่น เกิดช่องว่างระหว่างโบว์แมนส์แคปซูลและโกลเมอรูลัสมากกว่าที่พบในกลุ่มควบคุม อาจเป็นไปได้ว่า ทั้งไคโตซานและไซเปอร์เมทรินที่ความเข้มข้นดังกล่าวทำให้เกิดการสลายของโกลเมอรูลัส จึงทำให้เห็นว่าโกลเมอรูลัสนั้นเกิดการสลายไปและซากของโกลเมรูลัสที่สลายไปอาจกระจายไปภายในที่ว่างภายในโบว์แมนส์แคปซูล จึงอาจทำให้มองเห็นเป็น amorphous substance ดังที่รายงานผลการศึกษาข้างต้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของไซเปอร์เมทรินใน *Heterobranchus bidoralis* ที่ 5 ระดับความเข้มข้นคือ 0.032, 0.034, 0.036, 0.038 และ 0.040 ml/L ต่อลักษณะของไต พบว่าที่ความเข้มข้น0.032, 0.034 และ 0.036 ml/L. ทำให้เกิดการสลายตัวของนิวเคลียสและองค์ประกอบภายใน และยังพบว่าความเข้มข้น 0.038 และ 0.040 ml/L ยังมีผลทำให้ลักษณะของโกลเมอรูลัสผิดปกติและตรวจพบคราบเลือดในโกลเมอรูลัสอีกด้วย

(Olufayo and Alade, 2012) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาในส่วนของ renal corpuscle พบว่า ตัวอ่อนของ *C. gariepinus* ที่ได้รับผงจากรากของต้นหางไหล โกลเมอรูลัสนั้นจะกระจายตัวออก ไม่มีการจัดเรียงตัวกันเป็นก้อน (Olufayo, 2009) ลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารดังกล่าวมีผลการตายของเซลล์ในเนื้อเยื่อไต จึงอาจพบซากจากการสลายตัวของโกลเมอรูลัสและมองเห็นเป็น amorphous substace ตามที่กล่าวข้างต้น และส่งผลต่อการทำงานของไต ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีกว่าโกลเมอรูลัสนั้นทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการกรองของเสียออกจากเลือดและขับออกมากับปัสสาวะ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการรักษาสมดุลของน้ำในร่างกายของสิ่งมีชีวิต เมื่อโกลเมอรูลัสเกิดการเสื่อมสภาพ การรักษาสมดุลของน้ำในร่างกายจึงไม่สามารถทำได้ ส่งผลให้ร่างกายเกิดความเครียดขึ้น และส่งผลต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างดังที่รายงานข้างต้น ในกรณีกลุ่มที่ได้รับไคโตซานนั้นก็จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเร็วขึ้นด้วยมีผลเร่งเช่นเดียวกัน แต่กรณีของกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินนั้นอิทธิพลของไซเปอร์เมทรินยังหน่วงการทำงานของไทรอยด์ฮอร์โมนจึงทำให้ตัวอ่อนของกบเปลี่ยนแปลงรูปร่างช้ากว่าปกติอยู่แม้จะเกิดความเครียด

2. บริเวณท่อของหน่วยไต

จากการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค พบว่า ภายในเซลล์เยื่อบุท่อหน่วยไตของกบมีการสร้างแวคิวโอลขนาดใหญ่ ในกุล่มที่ได้รับไคโตซาน 5ppm และ 1 ppm และพบว่าแวคิวโอลมีขนาดเล็กลงในกลุ่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 0.2ppm ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับแวคิวโอลที่พบในกลุ่มที่ได้รับสารไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2ppm ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของไคโตซานที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเพิ่มขนาดของแวคิวโอลที่พบในท่อหน่วยไต แต่อย่างไรก็ตามยังไม่อาจสรุปได้ว่าความเข้มข้นของไซเปอร์เมทรินที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อการเพิ่มขนาดของแวคิวโอล ทั้งนี้เพราะกบทดลองที่ได้รับไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 1 ppm นั้นมีจำนวนตัวอย่างเพียงแค่สองตัวอย่างซึ่งน้อยเกินไปจนไม่สามารถตรวจพบได้ นอกจากนั้นการศึกษาผลของไซเปอร์เมทรินใน *Heterobranchus bidoralis* ที่ 5 ระดับความเข้มข้นคือ 0.032, 0.034, 0.036, 0.038 และ 0.040 ml/L ต่อลักษณะของท่อไต พบว่าที่ความเข้มข้น 0.036 ml/L. เป็นต้นไป มีการสร้างแวคิวโอลในเซลล์ของเยื่อบุท่อไต (Olufayo and Alade, 2012) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Oulmi *et al.*(1995) ในไลนูรอน (Linuron) สารกำจัดศัตรูพืชในปลาเทร้าท์ (*O. mykiss*) แสดงให้เห็นการเกิดแวคิวโอลขนาดเล็กในเซลล์ของเนื้อเยื่อบุผิวท่อไตในส่วนต้นและส่วนกลาง แสดงให้เห็นว่าสารดังกล่าวทำให้เซลล์ของไตได้รับความ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เสียหายมากซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับในการศึกษาความเป็นพิษของ เลดไนเตรทใน *R. ridibunda* ซึ่งตรวจพบว่ามีการเกิดแวคิวโอลในเซลล์ของท่อไตเช่นกัน (Loumbourdis, 2003) ซึ่งผลจากการที่เกิดแวคิวโอลในเซลล์ของท่อไตนั้น มีผลต่อการดูดกลับสารของท่อไต ทำให้ไตไม่สามารถดูดสารกลับมาได้ เพราะแวคิวโอลที่อยู่ภายในเซลล์นั้นขัดขวางการดูดกลับน้ำและแร่ธาตุของท่อไต ทำให้ร่างกายไม่สามารถรักษาสมดุลของน้ำและแร่ธาตุไว้ได้ และส่งผลให้เกิดความเครียดขึ้นเช่นกัน

3. พยาธิสภาพอื่น ๆ

นอกจากการตรวจพบความผิดปกติในโกลเมอรูลัส และท่อหน่วยไต แล้วยังพบว่ากลุ่มกบที่ได้รับไคโตซาน ทุกความเข้มข้น เห็นว่าภายในโบว์แมนแคปซูลของไตกบมีเซลล์เม็ดเลือดแดงอยู่มากกว่าปกติ โดยเฉพาะในกุล่มที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 5ppm และลดลงไปเมื่อความเข้มข้นของไคโตซานลดลง แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของไคโตซานที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดแดงภายในหน่วยไต โดยสาเหตุอาจเป็นเนื่องมาจากการการที่ไตของกบตอบสนองต่อโลหะหนักที่อยู่ในน้ำมากกว่าปกติ อันเป็นผลเนื่องมาจากความสามารถของไคโตซานในการจับยึดโลหะหนัก ทำให้ลูกกบที่ได้รับไคโตซานที่ความเข้มข้น 5 ppm. ตอบสนองต่อโลหะหนักได้ดียิ่งขึ้น ดังรายงานการศึกษาความเป็นพิษในปลาเทร้าท์ *O. mykiss* ที่ได้รับไคโตซานมีการรวมกันของเมล็ดเลือดแดงมากกว่าปกติภายนอกเส้นเลือดฝอยที่บริเวณเหงือกของปลา (Bullock G. *et al*., 2000)

จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจุลกายวิภาคของไตในตัวอ่อนกบนา นั้นแสดงให้เห็นว่า ทั้งไคโตซานและไซเปอร์เมทรินต่างก็มีผลต่อลักษณะของไตและย่อมส่งผลต่อการทำงานของไตด้วยทำให้ประสิทธิภาพการกรองของไตลดลง สมดุลของร่างกายจึงไม่สามารถรักษาสภาพไว้ได้ เช่นกัน ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวนั้นให้ผลเช่นเดียวกันกับการศึกษาสารกำจัดศัตรูพืชอื่น ๆ ในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก ดังนี้ การศึกษาความเป็นพิษของคาร์บาริลต่อไต ซึ่งศึกษาใน *Bufotes variabilis* ที่ได้รับเลดไนเตรทเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักตัว เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า ทั้งสามระดับความเข้มข้นต่างก็ให้ผลที่แสดงถึงความผิดปกติของไต คือ ที่ความเข้มข้นต่ำสุด เซลล์ที่โบว์แมนแคปซูลเกิดความผิดปกติ โกลเมอรูลัสหดตัว เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.1 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักตัว ตรวจพบอาการเลือดออกในเนื้อเยื่อไต และที่ความเข้มข้นสูงสุด ตรวจพบการสะสมสารในแวคิวโอลภายในเซลล์ของท่อไต การสลายตัวของนิวเคลียส และเซลล์เยื่อบุผิวของท่อไตเกิดการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาย (Çakıcı, 2015) ซึ่งให้ผลการศึกษาเช่นเดียวกันกับ *Euphlyctish exadactylus* ที่ได้รับคาร์บาริล (Renuka, 2013)

จากการศึกษาดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า ทั้งสารไคโตซานและไซเปอร์เมทริน ต่างก็มีแนวโน้มแสดงความเป็นพิษและเกิดผลกระทบต่อกบนา ซึ่งเป็นผู้บริโภคที่สำคัญในระบบนิเวศ และเป็นแหล่งอาหารทีสำคัญสำหรับเกษตรกรในท้องถิ่น มิได้แค่ชุมชนในตำบลนานกกก แต่หมายรวมโดยทั่วไป ดังนั้นการสร้างความตระหนักถึงผกระทบดังกล่าวให้เกษตรกรและคนในท้องถิ่นจึงมีบทบาทสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เพื่อที่จะได้ร่วมกันเฝ้าระวังการใช้สารเคมีทางการเกษตร หรือ การปรับเปลี่ยนวิธีการดูแลรักษาผลผลิตทางการเกษตรให้เป็นเกษตรอินทรีย์ เพื่อลดการใช้สารเคมีที่อาจจะส่งผลอันตรายต่อระบบนิเวศต่อไป

การใช้สื่อการสอน

จากการที่ได้นำบทปฏิบัติการเรื่อง การเปลี่ยนรูปร่างของกบ ให้นักเรียนได้ศึกษาและใช้ปฏิบัติการการศึกษาของนักเรียน พบว่า นักเรียนให้ความสนใจต่อบทปฏิบัติการในระดับดี ด้านความรู้ นักเรียนเกิดความรู้ความเข้าใจในเรื่องของการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของสิ่งมีชีวิต นักเรียนสามารถอธิบายขั้นตอนของการเจริญเติบโตได้ของกบนา และเชื่อมโยงความรู้ที่ได้จากการเรียนรู้อธิบายการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ได้ รวมถึงการบอกปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ได้อีกด้วย นอกจากนี้นักเรียนสามารถถึงความสัมพันธ์ในระบบนิเวศ ขยายความรู้จากเรื่องการศึกษากบนาจากระบบนิเวศในท้องถิ่นสู่ระบบนิเวศที่ใหญ่ขึ้น และตระหนักถึงคุณค่า โทษ อันตรายจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร เกิดความคิดที่จะหาวิธีการใหม่ ๆ มาใช้เพื่อลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร และนำความรู้ที่ได้สู่การขยายผลในครัวเรือน และชุมชนในรูปแบบต่าง ๆ เช่น การบอกปากต่อปาก การประชาสัมพันธ์ผ่านสื่อในชุมชน นอกจากนี้นักเรียนได้รับการพัฒนาทักษะกระบวนการ และมีเจตคติที่ดีต่อวิทยาศาสตร์ เกิดความกระตือรือร้นมากขึ้น นอกจากนี้การใช้สื่อการสอนบทปฏิบัติการเรื่อง การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา ทำให้นักเรียนสามารถทำการศึกษาได้ด้วยตนเอง แม้จะอยู่นอกเวลาเรียนตามปกติ ซึ่งทำให้ครูมีบทบาทเป็นเพียงที่ปรึกษา ลดการสอนแบบบรรยาย ได้

บทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้นน่าสนใจอาจเป็นผลเนื่องมาจากมีเนื้อหาและปฏิบัติการที่เพิ่มเติมจากแบบเรียนของสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) และเนื่องจากเป็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ใช้สัตว์ทดลองทำให้นักเรียนได้ร่วมกันระดมความคิดของแต่ละคนเพื่อทำการทดลองให้ดีที่สุดสรุปและอภิปรายผลการทดลองตามลำดับทำให้นักเรียนได้แสดงความคิดเห็นของตนเองได้อย่างเต็มความสามารถและช่วยให้นักเรียนมีทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์มากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ หวานใจ (2556) ที่ได้ศึกษาการพัฒนาบทปฏิบัติการการทดลองในรายวิชาเคมี

นอกจากนี้ยังมีความเห็นว่า ควรมีการสร้างและพัฒนาบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ในหัวข้ออื่นๆ ที่เน้นการทดลองและควรพัฒนาบทปฏิบัติการให้น่าสนใจด้วยการสร้างบทปฏิบัติการที่มีตัวการ์ตูนเป็นตัวนำอธิบายและเสริมความรู้ต่างๆในบทปฏิบัติการเพื่อให้นักเรียนได้เรียนรู้อย่างสนุกสนานและได้รับความรู้ควบคู่กันไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษา

ไคโตซานและไซเปอร์เมทรินส่งผลกระทบต่อตัวอ่อนกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) ดังนี้

1. ทั้งไคโตซานและไซเปอร์เมทรินยิ่งความเข้มข้นสูงขึ้นมีผลทำให้ต่ออ่อนของกบนาตายมากขึ้น

2. ไคโตซานส่งผลให้ตัวอ่อนกบนาใช้ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลดลง ในขณะที่ไซเปอร์เมทรินกลับใช้ระยะเวลายาวนานขึ้น

3. ไคโตซานและไซเปอร์เมทริน ต่างก็ส่งผลให้เกิดความผิดปกติต่อไตของตัวอ่อนกบนา โดยเกิดการสลายของโกลเมอรูลัส และทำให้เกิดการสร้างแวคิวโอลในเซลล์เยื่อบุของท่อหน่วยไต

เมื่อนำความรู้ที่ได้จากการศึกษาไปจัดทำสื่อการเรียนการสอนในรูปแบบบทปฏิบัติการ เรื่อง การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกบนา และนำไปใช้กับนักเรียนพบว่า บทปฏิบัติการดังกล่าวสามารถทำให้นักเรียนมีความรู้ในเรื่อง การดำรงชีวิตของกบนาและผลกระทบของสารเคมีทางการเกษตรก่อกบนา นักเรียนมีความตระหนักถึงผลกระทบของการใช้สารเคมีทางการเกษตร และมีความพึงพอใจต่อสื่อในระดับมาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บรรณานุกรม

กรมประมง. 2538. กบนา:Common lowland frog, *Ranarugulosa wiegmann*. กองประมงน้ำจืด กรมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.

ทิศนา แขมมณี.2552. 14 วิธีสอนสำหรับครูมืออาชีพ.กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิคม ทาแดง. 2527.เอกสารการสอนชุดวิชา การสอนวิทยาศาสตร์หน่วยที่ 8-15. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

ประภัสสร สุรวัฒนาวรรณ. 2555. ไคติน. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.gpo.or.th/rdi/html/chitin.html (20 ธันวาคม 2555)

ปิ๋วย อุ่นใจ. 2011. ไคโตซาน [ออนไลน์]. แหล่งที่มาhttp://www.thailabonline.com/news3chitin-chitosan.htm(20 ธันวาคม 2555)

พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา. 2551. ชีววิทยา 1. กรุงเทพฯ:เซนเกจเลินนิ่ง (ประเทศไทย) จำกัด

วิไลวรรณ แสนพาน. 2553.สาระการเรียนรู้และการออกแบบกระบวนการจัดการเรียนรู้วิทยาศาสตร์.กรุงเทพฯ :สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

วีระยุทธ์ เลาหะจินดา. 2552. วิทยาสัตว์เลื้อยคลานและสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก. ภาควิชาสัตว-วิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ศจีมาศ ณ วิเชียร .2557. 10 วิธีสอน.ไฟล์ข้อความhttp://web.eng.ubu.ac.th/~qa/news_file/PP1.pdf (15 ตุลาคม 2557)

สหกรณ์กรีนเนท. 2557. พิษภัยสารเคมีเกษตร. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.greennet.or.th/article/263.html (28 ธันวาคม 2557)

สาคร ศรีมุข. 2556. ผลกระทบจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรของประเทศไทย(The Impact of the Use of Agricultural Chemicalsin Thailand). บทความวิชาการ ปีที่ 3 ฉบับที่ 17 กันยายน 2556. ไฟล์ข้อความ http://library.senate.go.th/document/Ext6409/6409657_0002.PDF (20 ตุลาคม 2557)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สาลิกา อริธชาติ บุญเกตุ ฟองแก้ว สมศักดิ์ วนิชชาชีวะ กนกพร แสนเพ็ชร ระวิวรรณ ลาชโรจน์ และ ทิพวรรณ สิงหไกรภพ. 2549. คู่มือการปฏิบัติการผ่ากบ. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.เชียงใหม่.

หวานใจ โบบทอง.2556. การพัฒนาบทปฏิบัติการเคมี เรื่องจลนศาสตร์เคมี สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 5วิชา จลนศาสตร์เคมีและสมดุลเคมีปีการศึกษา 2556. ไฟล์ข้อความ http://113.53.232.212/~infopcc/vijai57/a-wanjai.pdf. (12 ตุลาคม 2557)

อรนุช ลิมตศิริ. 2543. นวัตกรรม และเทคโนโลยีการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ:โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

อาภรณ์ ใจเที่ยง. 2546. หลักการสอน(ฉบับปรับปรุง).พิมพ์ครั้งที่ 3 .กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์, 2546

Aslam F., Khan A., Khan M.Z., *et* al.2010. Toxico-pathological changes induced by cypermethrin in broiler chicks: Their attenuation with VitaminE and selenium. Experimental and Toxicologic Pathology 62, 441–450.

Ayoola S., Idowu A, and Ikenweiwe N., EF Ajagbe.2010.Heamatological Changes in *Clarias gariepinus* Exposed to Cypermethrin. Journal of Environmental Extension 9, 63 – 71.

Bacchetta, R., Mantecca, P., Andrioletti, M., Vismara, C. and Vailati, G. 2008. Axial-skeletal defects caused by carbaryl in *Xenopus laevis* embryos. *Sci Total Environ*. 392, 110–118.

Begum G. 2005. In vivo biochemical changes in liver and gill of *Clarias batrachus* during cypermethrin exposure and following cessation of exposure. Pesticide Biochemistry and Physiology 82, 185–196.

Boone MD, James SM. 2003. Interactions of an insecticide, herbicide, and natural stressors in amphibian community mesocosms. Ecol Appl 13, 829–841.

Bro – Rasmussen, F., 1996.Contamination by persistent chemicals in food chain and human health. Science of the Total Environment 188, 45 – 60.

Bullock, G., V. Blazer, S. Tsukuda, and S. Summerfelt. 2000. Toxicity of Acidified Chitosan for Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 185(3/4), 273-280.

Çakıcı, Ö., 2015. Histopathologic changes in liver and kidney tissues induced by carbaryl in *Bufotes variabilis* (Anura: Bufonidae). Experimental and Toxicologic Pathology.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Caliskan M., Erkmen B. and Yerli S.V. 2003.The effects of zeta cypermethrin on the gills of common guppy *Lebistes reticulates*. Environmental Toxicology and Pharmacology 14, 117 – 120.

Cantalamessa, F., 1993.Acute toxicity of two pyrethroids, permethrin and cypermethrin, in neonartal and adult rats. Archives of Toxicology 67, 510 - 513.

Cheek, A.O., Ide, C.F., Bollinger, J.E., Rider, C.V., McLachlan, J.A., 1999. Alteration of leopard frog (*Rana pipiens*) metamorphosis by the herbicide acetochlor. Arch Environ Contam Toxicol. 37, 70–77.

Coady K., Murphy M., Villeneuve D., Hecker M., Jones P., Carr J., Solomon K., Smith E., Van Der Kraak G., Kendal R., and Giesy J., 2004. Effects of atrazine on metamorphosis, growth, and gonadal development in the green frog (*Rana clamitans*). J Toxicol Env Health A67, 941–957.

Das B.K. and Mukherjee S.C. 2003. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 134, 109–121.

Dautremepuits C., Paris-Palacios S., Betoulle S. and Vernet G. 2004. Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus caprio* L.) induced by copper and chitosan. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 137,325 – 333.

Davey, J.C., Nomikos, A.P., Wungjiranirun, M., Sherman, J.R., Ingram, L., Batki, C., Lariviere, J.P., and Hamilton, J.W., 2008. Arsenic as an endocrine disruptor: arsenic disrupts retinoic acid receptor-and thyroid hormone receptor-mediated gene regulation and thyroid hormone-mediated amphibian tail metamorphosis. Environ Health Perspect. 116(2), 165-72.

Deuchi K., Kanauchi O., Imasato Y., and Kobayashi E. Decreasing Effect of Chitosan on the Apparent Fat Digestibility by Rats Fed on a High-fat Diet. Biosci.Biotech.Biochem., 58(9), 1994, 1613-1616.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Deuchi K., Kanauchi O., Imasato Y., and Kobayashi E. Effect of the Viscosity or Deacetylation Degree of Chitosan on Fecal Fat Excreted from Rats Fed on High-fat Diet.Biosci. Biotech.Biochem., 59(5), 1995, 781-785.

Duellman, W.E. and Trueb, L., 1986. Biology of Amphibians.JHU Press.p (670) 172 – 193.

Freeman JL, Beccue N, Rayburn AL. 2005. Differential metamorphosis alters the endocrine response in anuran larvae exposed to T-3 and atrazine. Aquat Toxicol 75, 263–276.

Furlow, J.D., Yang, H.Y., Hsu, M., Lim, W., Ermio, D.J., Chiellini, G., and Scanlan, T.S., 2004. Induction of larval tissue resorption in *Xenopus laevis* tadpoles by the thyroid hormone receptor agonist GC-1. J Biol Chem. 279, 26555–26562.

Gammon, W.D., Brown, M.A., Casida, J.E., 1981.Two classes of pyrethroid action in cockroach. Pesticide Biochemistry and Physiology. 15, 181 – 191.

Goleman, W.L., Urquidi, L.J., Anderson, T.A., Smith, E.E., Kendall, R.J., and Carr, J.A., 2002. Environmentally relevant concentrations of ammonium perchlorate inhibit development and metamorphosis in *Xenopus laevis*. Environ Toxicol Chem. 21, 424–430.

Gutleb, A.C., Appelman, J., Bronkhorst, M., van den Berg, J.H., Murk, A.J., 2000. Effects of oral exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) on the development and metamorphosis of two amphibian species (*Xenopus laevis* and *Rana temporaria*). Sci Total Environ. 262, 147–157.

Haya, K., 1989. Toxicity of pyrethroid insecticides to fish. Environmental Toxicology and Chemistry 8, 381 – 391.

Hayes T., Stuart A., Mendoza G., Collins A., Noriega N., Vonk A., Johnston G., Liu R. and Kpodzo D. 2006. Characterization of atrazine-induced gonadal malformations and effects of an androgen antagonist (cyproterone acetate) and exogenous estrogen (estradiol 17β): Support for the demasculinization/feminization hypothesis. *Environ. Health Perspect* 114, 134-141.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

Iwamuro, S., Sakakibara, M., Terao, M., Ozawa, A., Kurobe, C., Shigeura, T., Kato, M., and Kikuyama, S., 2003.Teratogenic and anti-metamorphic effects of bisphenol A on embryonic and larval *Xenopus laevis*. Gen Comp Endocrinol. 133, 189–198.

Jayatillake, B.A.D.M.C., Wijesinghe, M.R., Ratnasooriya, W.D. and Lakraj, G.P. 2011. Toxic effects of Carbofuran on *Duttaphrynus melanostictus* Larvae. *Internat J Environ Sci*. 2(2), 1060-1070.

Jian X., Florence P., Alan M., Laurent S. and Geneviève G. , 1999. Effects of chitosan on rat knee cartilages. Biomaterials 20, 1937 – 1944.

Kanauchi O., Deuchi K., Imasato Y., and Kobayashi E., 1994. Increasing Effect of a Chitosan and Ascorbic Acid Mixture on Fecal Dietary Fat Excretion. Biosci. Biotech. Biochem., 58(9), 1617-1620.

Kaneko, M., Fujisawa, H., Okada, R., Yamamoto, K., Nakamura, M., and Kikuyama, S., 2005. Thyroid hormones inhibit frog corticotropin-releasing factor-induced thyrotropin release from the bullfrog pituitary in vitro. Gen Comp Endocrinol. 144, 122–127.

Kinsel, W.G. (Ed.), 1993. Groundwater Loading effects of Agricultural Management Systems. (Version 2.10).[Online]. Tifton, Georgia: United states Departmen of Agriculture – Agricultural Research Service. [Online]. http://www.arsusda.gov/rsml/ppbd.html (20 January 2015)

Klaassen, C.D., Amdur, M.O. and Doull, J. (Eds)., 1996. Casarette & Doull's Toxicology. The Basic Science of poisons. (5thed.). Toronto: McGraw – Hill Companies, Inc.

Kumar, A., Sharma, B., Pandey. R.S., 2009a.Cypermethrin and λ - cyhalothrininduced *in vitro* alterations in nucleic acids and protein contents in a freshwater catfish *Claris batrachus* (Linnaeus; Family Clariidae). J. Environ. Sci. Health, Part B 44, 564 – 570.

Kumar, A., Rai, D.K., Sharma, B., Pandey, R.S., 2009b. Cyalothrin and cypermethrin induced *in-vivo* alterations in the activity of acetylcholinesterase in a freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). Pestic.Biochem. Physiol. 93, 96 – 99.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Kumar, A., Sharma, B., Pandey, R.S., 2009c. Assessment of acute toxicity of λ - cyhalothrin to a freshwater fish, *Claris batrachus* Environ. Chem. Lett. 10, 10 – 20.

Kumar, A., Sharma, B., Pandey., R.S., 2011. Cypermethrin induced alterations in nitrogen meatabolism in freshwater fishes. Chemosphere 83, 492 – 501.

Lawrence, J.L. and Casida, J.E., 1982. Pyrethroid toxicology: mouse intracerebral structure – toxicity relationships. Pesticide Biochemistry and Physiology 18, 914.

Lim, W., Nguyen, N.H., Yang, H.Y., Scanlan, T.S.,vand Furlow, J.D., 2002. A thyroid hormone antagonist that inhibits thyroid hormone action in vivo. J Biol Chem. 277: 35664–35670.

Loumbourdis, N.S., 2003. Nephrotoxic effects of lead nitrate in *Rana ridibunda*. Arch Toxicol 77, 527 -32.

Maniatis, G.M. and Ingram V.M., 1971. Erythropoiesis During Amphibian Metamorphosis. The Journal of Cell Biology 40, 372 – 379.

Maciel, T.A., and Juncà, 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.

Miyata, K., and Ose, K., 2012. Thyroid Hormone - disrupting Effects and the Amphibian Metamorphosis Assay. J Toxicol Pathol. 25(1), 1–9.

Morey, S.R.andReznick, D.N., 2004. The relationship between permanence and larval development in California spadefoot toads: field and laboratory comparisons of developmental plasticity. Oikos 104, 172 – 190.

Nesovic-Ostojic, J., Cemerikic, D., Dragovic, S., Milovanovic, A., and Milovanovic, J., 2008.

Low micromolar concentrations of cadmium and mercury ions activate peritubular membrane K+ conductance in proximal tubular cells of frog kidney. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 149(3), 267 – 274.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Okada, R., Yamamoto, K., Koda, A., Ito, Y., Hayashi, H., Tanaka, S., Hanaoka, Y., and Kikuyama, S., 2004. Development of radioimmunoassay for bullfrog thyroid-stimulating hormone (TSH): effects of hypothalamic releasing hormones on the release of TSH from the pituitary in vitro. Gen Comp Endocrinol. 135, 42–50.

Olufayo, M.O., 2009. Haematological Characteristics of *C. gariepinus* juveniles exposed to Derris root powder. Afr. J. Food Agric. Nutr. 9(3), 921-933.

Olufayo, M. O. and Alade, O. H. 2012. Acute toxicity and histological changes in gills, liver and kidney of catfish, *Heterobranchus bidorsalis* exposed to cypermethrin concentration. African Journal of Agricultural Research Vol. 7(31), 4453-4459.

Omara, E.A., Aly, H. F., and Nada, S.A., 2012. Chitosan induced hepato-nephrotoxicity in mice with special reference to gender effect in glycolytic enzymes activities. Regulatory Toxicology and Pharmacology 62, 29–40.

Oulmi, Y., Negele, R.D., and Braunbeck, T., 1995. Cytopathology of liver and kidney in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after long-term exposure to sub lethal concentrations of linuron. Dis. qua. Org. 21, 35-52.

Parker, C.M., Patterson, D.R., Van Gelder, G.A., Gordon, E.B., Valerio, M.G., Hall, W.C., 1984. Chronic toxicity and carcinogenicity evaluation of fenvalerate in rats. Journal of Toxicology and Environmental Health 13, 83 – 97.

Renuka, M.R., 2013. Effects of some pesticides on histopathological and biochemical aspects of *Euphlyctis hexadactylus* (Lesson)(Amphibia: Anura). Mahatma Gandhi University.p. 150 (ph.D.Thesis).

Rowley, J. J. L., Stuart, B. L., Richards, S. J., Phimmachak, S. and Sivongxay, N. 2010a. A new species of *Lepto lalax* (Anura: Megophryidae) from Laos. *Zootaxa* 2681, 35-46.

Rowley, J. J. L., Le T. T. D., Tran T. A. D., Stuart, B. L. and Hoang D. H. 2010b. A new tree frog of the genus *Rhacophorus* (Anura: Rhacophoridae) from southern Vietnam. Zootaxa 2727, 45-55.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Saha, S., and Kaviraj, A.2003. Acute toxicity of synthetic pyrethroid - cypermethrin to freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). International journal of toxicology, 22(4), 325-328.

Singha, U., Pandey, N., Boro, F., Giri, S., Giri, A., and Biswas, S., 2014. Sodium arsenite induced changes in survival, growth, metamorphosis and genotoxicity in the Indian cricket frog (*Rana limnocharis*).Chemospere 112, 333 – 339.

Suzuki, S., and Fujikura, K., 1994. Circulating thyroglobulin in tadpoles and adult frogs of Rana catesbeiana. Gen Comp Endocrinol. 94, 72–77.

Tietge, J.E., Holcombe, G.W., Flynn, K.M., Kosian, P.A., Korte, J.J., Anderson, L.E., Wolf, D.C., and Degitz, S.J., 2005. Metamorphic inhibition of *Xenopus laevis* by sodium perchlorate: effects on development and thyroid histology. Environ Toxicol Chem. 24, 926–933.

Trachantong, W., Promya, J., Saenphet, S., and Saenphet, S., 2013. Effects of atrazine herbicide on metamorphosis and gonadal development of *Hoplobatrachus rugulosus*. Maejo Int. J. Sci. Technol 7(Special Issue), 60-71.

Transweb Global Inc. 2014.Kidney of frogs. [Online] Available at :http://www.transtutors.com /biology-homework-help/zoology/kidneys-of-frog/ (22 December 2014)

Veldhoen, N., Skirrow, R.C., Osachoff, H., Wigmore, H., Clapson, D.J., Gunderson, M.P., Van Aggelen, G., and Helbing, C.C., 2006. The bactericidal agent triclosan modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. Aquat Toxicol. 80, 217–227.

Velisek J., Wlasow T., Gomulka P., Svobodova Z., Dobsikova R., Novotny L., Dudzik M., 2006. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).VeterinarniMedicina, 51(10), 469–476.

Waller, D.L., J.J. Rach, W.G. Cope, L.L. Marking, S.W. Fisher, and H. Dabrowska. 1993. Toxicity of CandidiateMolluscicides to Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*) and Selected Nontarget Organisms. J. Gt. Lakes Res. 19(4), 695-702.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Wilbur H.M., and Collin, J. P., 1973.Ecological Aspectsof Amphibian Metamorphosis: Nonnormal distributions of competitive ability reflect selection for facultative metamorphosis. [Online] Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17733097 (6January 2015)

Yoksan R., Chairachanchai S. 2008. Amphiphilic chitosan nanosphere: Studies on formation, toxicity, and guest molecule incorporation. Bioorganic & Medicinal Chemistry 16, 2687 – 2696.

Zahm, S.H., Blair, A. 1992. Pesticides and non – Hodkin's lymphoma. Cancer Research 52, 5484 – 5488.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมสารไซเปอร์เมทรินและไคโตซาน สำหรับการเลี้ยงตัวอ่อนกบนา

ppm. = mg/L

<u>สารไซเปอร์เมทริน</u>

สารไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 0.2 ppm.

น้ำประปา 1,000 ลิตร มีปริมาณไซเปอร์เมทริน 200 มิลลิกรัม

ถ้า น้ำประปา 2 ลิตร มีปริมาณไซเปอร์เมทริน $\frac{200x2}{1000} = 0.4$ มิลลิกรัม

สารไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 1 ppm.

น้ำประปา 1,000 ลิตร มีปริมาณไซเปอร์เมทริน 1000 มิลลิกรัม

ถ้า น้ำประปา 2 ลิตร มีปริมาณไซเปอร์เมทริน $\frac{1000x2}{1000} = 2$ มิลลิกรัม

สารไซเปอร์เมทรินความเข้มข้น 5 ppm.

น้ำประปา 1,000 ลิตร มีปริมาณไซเปอร์เมทริน 5000 มิลลิกรัม

ถ้า น้ำประปา 2 ลิตร มีปริมาณไซเปอร์เมทริน $\frac{5000x2}{1000} = 10$ มิลลิกรัม

<u>ไคโตซาน</u>

สารไคโตซานความเข้มข้น 0.2 ppm.

น้ำประปา 1,000 ลิตร มีปริมาณไคโตซาน 200 มิลลิกรัม

ถ้า น้ำประปา 2 ลิตร มีปริมาณไคโตซาน $\frac{200x2}{1000} = 0.4$ มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารไคโตซานความเข้มข้น 1 ppm.

น้ำประปา 1,000 ลิตร มีปริมาณไคโตซาน 1000 มิลลิกรัม

ถ้า น้ำประปา 2 ลิตร มีปริมาณไคโตซาน $\frac{1000x2}{1000}$ = 2 มิลลิกรัม

สารไคโตซานความเข้มข้น 5 ppm.

น้ำประปา 1,000 ลิตร มีปริมาณไคโตซาน 5000 มิลลิกรัม

ถ้า น้ำประปา 2 ลิตร มีปริมาณไคโตซาน $\frac{5000x2}{1000}$ = 10 มิลลิกรัม

2. การเตรียมสีย้อม

2.1 Eosin (1% Stock Alcholic Eosin)

- อีโอซินวาย ละลายน้ำได้ (Eosin Y, water soluble)	1	กรัม
- น้ำกลั่น ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วจึงเติม	20	มิลลิลิตร
- Ethanol 95%	80	มิลลิลิตร

สารละลายเวิคกิง (Working Solution)

- สารละลายอิโอซินสต็อค	1	ส่วน
- Ethanol 80%	3	ส่วน

* ก่อนใช้ให้เติม 1-1.5 มิลลิลิตร ของกรดอะซิติกเข้มข้นต่อ 100 มิลลิลิตร ของสีแล้วคนให้เข้ากัน

2.2 Harris' s Hematoxylin

- ฮีมาท็อกซิลิน (hematoxylin crystals)	5	กรัม
- Absolute alcohol	50	มิลลิลิตร
- แอมโมเนียม หรือ โปแทสเซียมอาลัม	100	กรัม
- น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
- เมอคิวริกออกไซด์เรด (Mercuric oxide, red)	2.5	กรัม

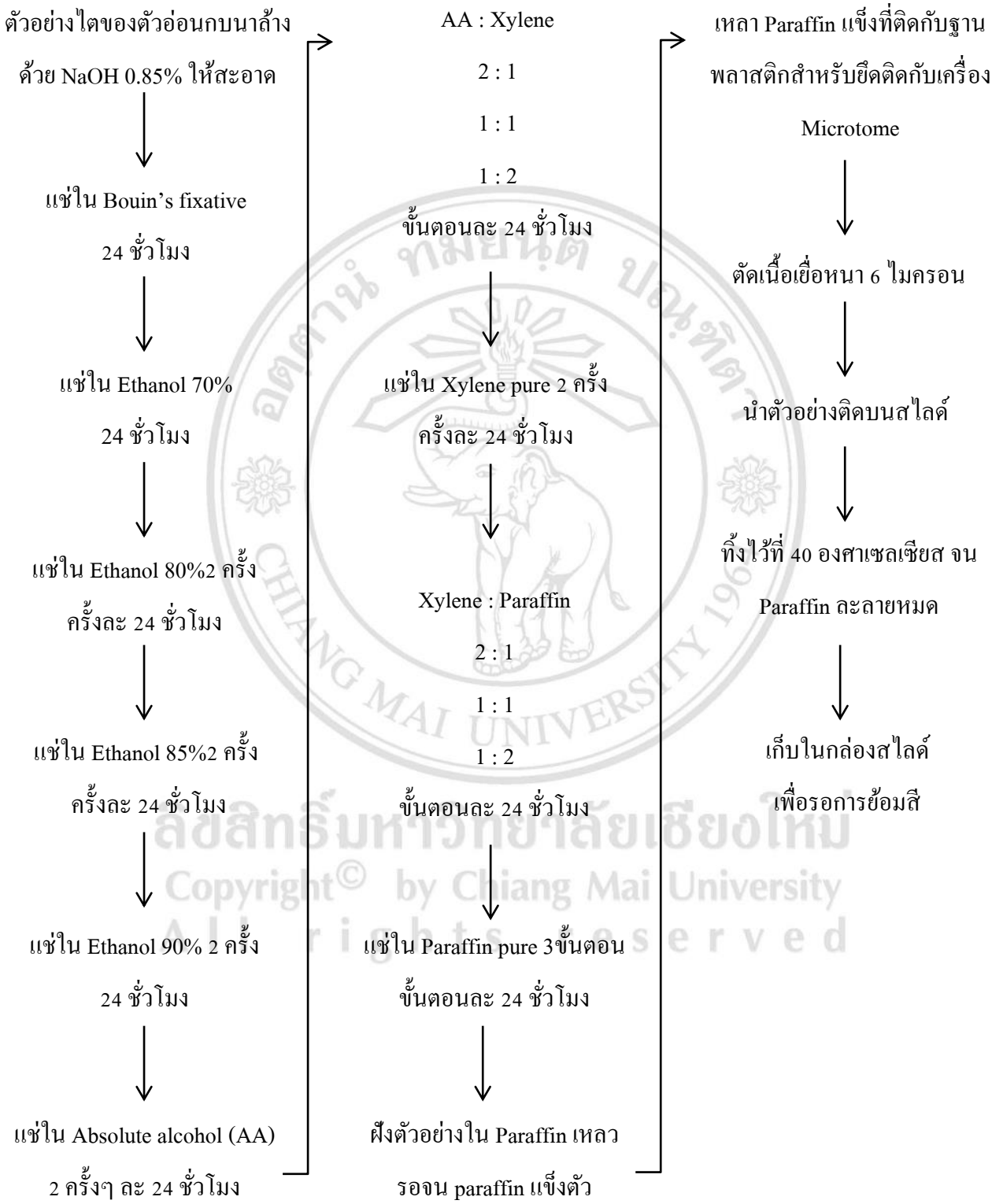
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีเตรียม

ละลาย**ฮีมาท็อกซิลิน**ใน Absolute Alcohol และละลายอาลัมในน้ำกลั่นด้วยความร้อนเมื่อละลายดีแล้วยกออกจาความร้อน แล้วจึงผสมสาร 2 อย่างนี้ด้วยกัน จากนั้นนำกลับไปต้มใหม่ให้รวดเร็วที่สุด (จำกัดเวลาในการต้ม 1 นาที) ระหว่างนี้ต้องใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลา หลังจากนั้นยกออกจากความร้อนเดิมแล้วเติมเมอคิวริกออกไซด์เรด แล้วยกกลับไปให้ความร้อนใหม่เดี่ยวจนเดือดให้กลายเป็นสีม่วงเข้ม (Dark purple) ยกออกจากความร้อนแล้วรีบทำให้เย็น โดยแช่ในภาชนะใส่น้ำสีนี้จะพร้อมใช้ทันทีที่เย็น ให้เติมกรดแอซิติกเข้มข้น 2 – 4 มิลลิลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร ของสารละลายเพื่อเพิ่มให้การติดสีของนิวเคลียสถูกต้องเที่ยงตรงยิ่งขึ้น โดยก่อนใช้ต้องกรองสีและควรเก็บในขวดสีชา

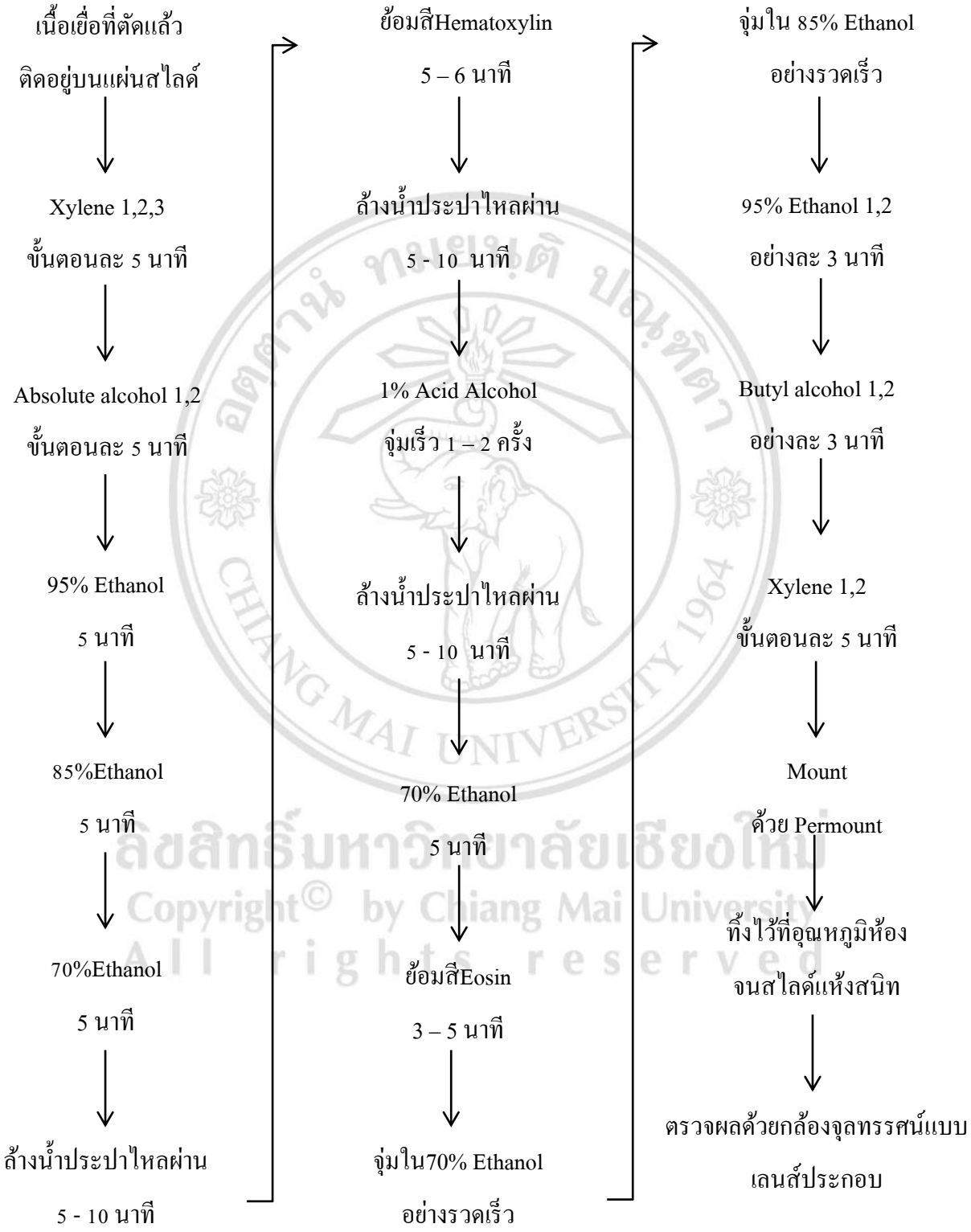
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การทำสไลด์เนื้อเยื่อไตของตัวอ่อนกบนา



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การย้อมสีสไลด์เนื้อเยื่อไตของตัวอ่อนกบนา

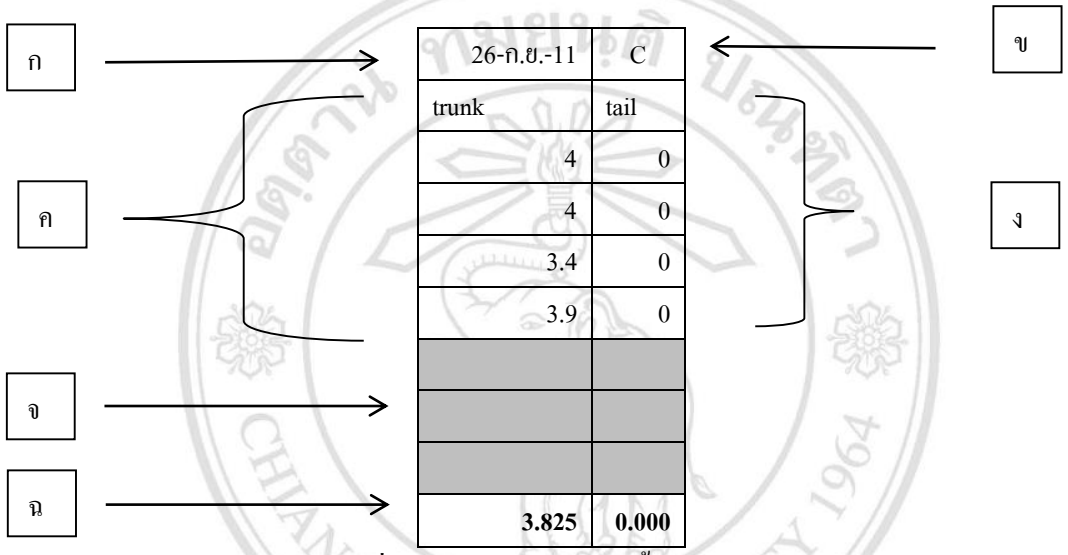


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

ข้อมูลงานวิจัย

เนื่องจากข้อมูลที่รวบรวมตลอดระยะเวลาดำเนินการทดลองมีปริมาณมาก เพื่อความสะดวกและรวดเร็วในการบันทึกข้อมูล จึงใช้สัญลักษณ์ต่างๆ มาประกอบการบันทึกข้อมูล และเพื่อประโยชน์ในการพิจารณาข้อมูลงานวิจัยจึงแสดงคำอธิบายตารางข้อมูล ดังต่อไปนี้



26-ก.ย.-11	C
trunk	tail
4	0
4	0
3.4	0
3.9	0
3.825	**0.000**

ภาพ 1 ตัวอย่างตารางบันทึกข้อมูลที่ได้จากการดำเนินการเลี้ยงตัวอ่อน *H. rugulosus* โดย

ก คือ วันที่บันทึกผลการทดลอง

ข คือ รหัสกลุ่มของการทดลอง; C หมายถึงกลุ่มควบคุม Chหมายถึงกลุ่มที่ได้รับไคโตซาน ซึ่งจะตามด้วยตัวเลขความเข้มข้นของไคโตซานเสมอ และ Cy หมายถึงกลุ่มที่ได้รับไซเปอร์เมทรินซึ่งจะตามด้วยตัวเลขความเข้มข้นของไซเปอร์เมทรินเช่นกัน

ค คือ ความยาวลำตัว ซึ่งวัดจากปลายจมูกถึงทวาร

ง คือ ความยาวหาง ซึ่งวัดจากทวารไปถึงปลายหาง

จ คือ สมาชิกตัวอ่อนที่ตายไปไม่สามารถเก็บข้อมูลได้

ฉ คือ ค่าเฉลี่ยมีหน่วยเป็นเซนติเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

23-ส.ค.-11	C
trunk	tail
1.5	3
1.5	3.1
1.5	3.2
1.4	3
1.2	2.9
1.4	2.1
1.5	3.5
1.5	3.2
1.5	3.2
1.5	3.4
1.5	3.3
1.6	3.6
1.4	3.2
1.462	**3.131**

25-ส.ค.-11	C
trunk	tail
1.5	3.1
1.8	3.3
1.7	3.4
1.4	2.8
1.6	2.8
1.8	3.2
1.8	3.1
1.8	3.6
1.7	3.2
1.7	3.2
1.6	3.2
1.7	3.6
1.7	3.6
1.68	**3.24**

28-ส.ค.-11	C
trunk	tail
1.6	3
1.6	3.5
2	4
2	3.9
1.8	3.5
2	4
2	3.5
2	3.7
1.8	4
1.7	3
1.8	3.8
1.6	3.5
2	3.6
1.84	**3.62**

31-ส.ค.-11	C
trunk	tail
1.8	3.2
2.2	2.7
2.2	2.2
2	3.6
2.2	3.1
2	3.9
2.1	2.9
2.1	4
1.8	3.3
1.7	3.9
2.2	3.6
2.1	3.5
2.03	**3.33**

4-ก.ย.-11	C
trunk	tail
1.9	2.1
1.9	0.8
1.9	0.7
1.8	1
1.8	3.4
1.8	3.5
2	3.6
1.9	3.7
1.8	2.3
1.9	2.5
1.8	2.1
1.7	2.3
1.88	**2.35**

7-ก.ย.-11	C
trunk	tail
2	0.2
2	0
2	2
2	3.2
1.9	2.1
2.1	0.9
2	1.3
2	1.5
1.7	1.4
2.3	1.6
2	1.2
2	1.4
2.00	**1.40**

9-ก.ย.-11	C
trunk	tail
1.9	0
1.8	0
2	0.3
2	0
1.9	3
1.9	0.6
1.9	0.5
2.0	0.7
1.8	0.8
1.7	0.6
1.9	1
2.1	0.2
1.92	**0.66**

12-ก.ย.-11	C
trunk	tail
2	0
2.2	0
2	0
1.9	0
2	0.4
1.9	0.2
2.1	0.2
2	0
1.8	0
2.2	0
2.03	**0.08**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

15-ก.ย.-11	C
trunk	tail
2.3	0
2.6	0
2.1	0
2.3	0
2.3	0.3
2.1	0
2.2	0
2.4	0
2.5	0
2.3	0
2.33	**0.03**

19-ก.ย.-11	C
trunk	tail
3.1	0
3.5	0
2.5	0
3.2	0
3.1	0
2.9	0
2.8	0
3.2	0
3.0	0
3.0	0
3.075	**0.000**

22-ก.ย.-11	C
trunk	tail
3	0
3.2	0
3.6	0
3.9	0
3.4	0
3.5	0
3.3	0
3.6	0
3.2	0
3.4	0
3.425	**0.000**

26-ก.ย.-11	C
trunk	tail
4	0
4	0
3.4	0
3.9	0
3.8	0
3.7	0
3.9	0
3.5	0
3.4	0
3.9	0
3.825	**0.000**

day	Hind Limb	Fore Limb	Met Comp	no limb	N
1	0	0	0	13	13
3	11	0	0	2	13
6	13	0	0	0	13
9	5	7	0	0	12
13	3	9	0	0	12
16	2	9	1	0	12
18	0	9	3	0	12
21	0	3	7	0	10
24	0	1	9	0	10
28	0	0	10	0	10
31	0	0	10	0	10
35	0	0	10	0	10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

23-ส.ค.-11	Ch5
trunk	tail
1.3	3.1
1.3	3.2
1.4	3.4
1.4	3
1.4	3.2
1.4	3.2
1.3	2.9
1.3	2.7
1.3	2.5
1.3	2.5
1.4	3
1.3	2.7
1.34	**2.95**

25-ส.ค.-11	Ch5
trunk	tail
1.7	3.4
1.6	3.4
1.7	3.3
1.9	2.2
1.7	3.1
1.7	3
1.8	3.3
1.7	3.2
1.8	2.8
1.8	3.4
1.5	3
1.5	3
1.70	**3.09**

28-ส.ค.-11	Ch5
trunk	tail
2	2.7
1.9	3.2
1.9	4.7
1.9	3.7
2	3.3
1.8	3.2
1.8	3.5
1.8	3.5
1.8	3.9
2	3.5
1.7	3.2
1.9	3.8
1.88	**3.52**

31-ส.ค.-11	Ch5
trunk	tail
2	3.8
2.2	3.2
2.2	3
2.2	2.9
1.8	3.9
2	3.6
2	4
2	3.6
2.1	4
1.8	3.3
2	3.6
2.03	**3.54**

4-ก.ย.-11	Ch5
trunk	tail
1.8	0.8
1.8	0.5
1.9	0.8
2.1	2.3
1.9	0.4
2.2	3.5
1.9	4
2	3.6
2.1	3.6
2	3.6
1.9	3.6
1.90	**3.60**

7-ก.ย.-11	Ch5
trunk	tail
2	1.5
2	0.9
1.9	2.2
1.9	0.3
2	0.3
1.9	0.5
1.95	**0.95**

9-ก.ย.-11	Ch5
trunk	tail
2	0.5
2	0
2	0
2	0.3
2	0
1.9	0
1.98	**0.13**

12-ก.ย.-11	Ch5
trunk	tail
2	0
1.9	0
19	0
2.2	0
2,1	0
2	0
4.87	**0.00**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

15-ก.ย.-11	Ch5
trunk	tail
3.1	0
2.4	0
3	0
2.4	0
2.4	0
2.6	0
2.65	**0.00**

19-ก.ย.-11	Ch5
trunk	tail
3.1	0
3.5	0
2.5	0
3.2	0
3.075	**0.000**

22-ก.ย.-11	Ch5
trunk	tail
3	0
3.2	0
3.6	0
3.9	0
3.425	**0.000**

26-ก.ย.-11	Ch5
trunk	tail
4	0
4	0
3.4	0
3.9	0
3.825	**0.000**

day	Hind Limb	Fore Limb	Met Comp	no limb	N
1	0	0	0	12	12
3	11	0	0	1	12
6	12	0	0	0	12
9	11	3	0	0	11
13	11	7	0	0	11
16	6	6	0	0	6
18	6	6	4	0	6
21	6	6	6	0	6
24	6	6	6	0	6
28	6	6	6		6
31	5	5	5		5
35	5	5	5		5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

23-ส.ค.-11	Ch1
trunk	tail
1.4	3.2
1.3	3.7
1.6	3.4
1.2	3
1.3	3
1.3	2.9
1.5	3.5
1.3	2.9
1.6	3.4
1.1	2.9
1.2	2.8
1.3	2.7
1.4	3.1
1.5	3.2
1.6	3
1.37	**3.11**

25-ส.ค.-11	Ch1
trunk	tail
1.7	3.5
1.7	3.5
1.5	2.9
1.8	3.5
1.6	3.1
1.5	3.2
1.7	3.2
1.8	3.3
1.7	3.2
1.6	3.4
1.8	3.4
1.6	3.3
1.5	3
1.8	3.3
1.5	3.3
1.65	**3.27**

28-ส.ค.-11	Ch1
trunk	tail
1.5	3.6
1.9	3.1
2	4
1.8	4
1.5	3
1.8	3.7
1.7	3.2
1.9	4.2
1.6	3.5
1.6	3.6
1.8	3.4
1.9	4.2
1.8	3.6
1.8	3.5
1.8	3.3
1.76	**3.59**

31-ส.ค.-11	Ch1
trunk	tail
2	3.7
2.2	3
1.9	3.7
2	3.8
2	3.7
1.6	3.2
2	3.7
1.8	3.5
1.8	3.4
1.7	3.6
2	3.4
2	3.9
1.8	3.6
1.9	3.4
2	2.8
1.91	**3.49**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4-ก.ย.-11	Ch1
trunk	tail
1.9	0.5
1.9	3.3
1.8	3.3
1.8	4
1.9	4
1.9	2.5
1.9	3.5
1.7	3.6
1.9	3.8
1.9	2.8
1.8	3.1
1.9	3.6
1.86	**3.17**

7-ก.ย.-11	Ch1
trunk	tail
1.9	0.8
2	0.1
2	0.1
1.9	0.1
2	0.1
1.9	2
1.9	1.6
1.9	4.1
1.9	3.7
2.1	3.2
1.95	**1.58**

9-ก.ย.-11	Ch1
trunk	tail
2	0
1.8	0
2	0
1.9	0.3
2	0
1.9	0.3
2	2.5
1.9	3
1.9	0
1.93	**0.68**

12-ก.ย.-11	Ch1
trunk	tail
1.8	0
2	0
1.8	0
2	0
2	0.1
2.6	0
2.4	0
2	0.5
2	0
2.06	**0.06**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

15-ก.ย.11	Ch1
trunk	tail
2.1	0
2.2	0
2.1	0
1.9	0
3.3	0
3.4	0
2.5	0
2.4	0
2.7	0
2.46	**0**

19-ก.ย.-11	Ch1
trunk	tail
2.6	0
2.8	0
2.2	0
3	0
2.9	0
3.9	0
2.2	0
3.5	0
2.89	**0**

22-ก.ย.-11	Ch1
trunk	tail
4.3	0
4	0
2.8	0
3	0
3.2	0
3.2	0
3.42	**0**

26-ก.ย.-11	
trunk	tail
4.4	0
3.4	0
3.3	0
4	0
4.6	0
3	0
3.78	**0**

day	Hind Limb	Fore Limb	Met Comp	no limb	N
1	0	0	0	15	15
3	11	0	0	4	15
6	15	0	0	0	15
9	15	2	0	0	15
13	12	5	0	0	12
16	10	9	0	0	10
18	9	8	5	0	9
21	10	8	8	0	9
24	10	10	10	0	10
28	8	8	8	0	8
31	6	6	6	0	6
35	6	6	6	0	6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

23-Aug11	Ch0.2
trunk	tail
1.4	3.1
1.4	2.7
1.4	2.8
1.4	2.8
1.2	2
1.2	3
1.4	3.2
1.5	2.7
1.5	3.2
1.4	2.7
1.4	2.8
1.3	2.7
1.38	**2.81**

25-Aug-11	Ch0.2
trunk	tail
1.7	2.9
1.8	2.2
1.8	3.1
1.5	3.2
1.4	3.2
1.7	2.9
1.6	3
1.5	2.6
1.7	3.1
1.4	3
1.9	3.5
1.3	3
1.61	**2.98**

28-Aug-11	Ch0.2
trunk	tail
2	3
2	3.8
1.8	3.4
1.8	3.4
1.9	3.1
1.5	3.6
1.5	3.7
2	4
1.8	3.6
1.8	3.7
1.5	3.8
1.7	3.7
1.78	**3.57**

31-Aug-11	Ch0.2
trunk	tail
1.8	3.7
2	3.7
2	3.7
2	3.7
2	3.7
1.8	3.6
2	2.8
2.2	2.6
2	3.7
1.8	3.8
1.8	4
1.95	**3.55**

4-Sep-11	Ch0.2
trunk	tail
2.1	0.9
2.1	2.8
2	1
2.1	2.1
2.1	0.2
2	3.2
1.8	2.8
1.9	3.9
2	3.7
1.9	4
2.00	**2.46**

7-Sep-11	Ch0.2
trunk	tail
1.9	0.2
2	0.2
2	0.2
2	0
2	0
2	0.2
1.9	0.2
2.2	4.2
2.1	2.5
1.9	2.4
2.00	**1.01**

9-Sep-11	Ch0.2
trunk	tail
2.2	0
2	0
2	3.1
2	0
2	0.4
2	0
1.9	0
2.1	0
2	0
1.9	0.3
2.01	**0.38**

12-Sep-11	Ch0.2
trunk	tail
2.2	0
2	0
1.8	0
2.9	0
2	0.1
2.1	0
1.8	0
1.9	0
2.09	**0.01**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

15-Sep-11	Ch0.2
trunk	tail
3.4	0
2.1	0
2.3	0
2.5	0
2.8	0
2.2	0
2.6	0
2.4	0
2.54	0.00

19-Sep-11	Ch0.2
trunk	tail
2.5	0
2.7	0
3.3	0
3.4	0
3.5	0
4.2	0
3.27	0.00

22-Sep-11	Ch0.2
trunk	tail
2.5	0
3.3	0
3.5	0
3	0
4	0
3.26	0.00

26-Sep-11	Ch0.2
trunk	tail
4.1	0
3.9	0
3.9	0
4	0
4.7	0
4.12	0.00

day	Hind Limb	Fore Limb	Met Comp	no limb	N
1	0	0	0	12	12
3	8	0	0	4	12
6	12	0	0	0	12
9	11	2	0	0	11
13	10	7	0	0	10
16	10	9	2	0	10
18	10	10	7	0	10
21	8	8	7	0	8
24	8	8	8	0	8
28	6	6	6		6
31	5	5	5		5
35	5	5	5		5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

23-Aug11	Cy5
trunk	tail
1.4	1.6
1.5	3
1.4	2.5
1.2	2.8
1.3	2.9
1.2	2.5
1.4	3
1.4	2.8
1.3	2.5
1.3	2
1.3	2.7
1.34	**2.57**

25-Aug-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

28-Aug11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

31-Aug-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

4-Sep-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

5-Sep-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

8-Sep-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

11-Sep-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

14-Sep-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

19-Sep-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

22-Sep-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

26-Sep-11	Cy5
trunk	tail
0.00	**0.00**

day	Hind Limb	Fore Limb	Met Comp	no limb	N
1	0	0	0	11	11
3	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

23-Aug-11	Cy1
trunk	tail
1.2	2.7
1.4	2.9
1.2	2.2
1.1	2.5
1.2	2.2
1.1	2.3
1.5	1.7
1.2	2.4
1.2	2.8
1.1	2.7
1.3	2.7
1.2	2.3
1.23	**2.45**

25-Aug-11	Cy1
trunk	tail
1.7	3
1.5	3
1.4	3
1.4	3
1.5	3.2
1.2	2.9
1.5	3
1.3	2.8
1.5	2.1
1.5	2.3
1.3	2.7
1.3	2.6
1.43	**2.80**

28-Aug-11	Cy1
trunk	tail
1.5	2.8
1.7	3.8
1.6	3.5
1.4	3.2
1.6	2.5
1.4	3
1.5	3
1.6	2.9
1.5	3.2
1.5	3.5
1.6	3.1
1.7	3.5
1.55	**3.17**

31-Aug-11	Cy1
trunk	tail
1.9	3.3
1.8	3.9
2	3.8
1.8	3.3
1.5	3.3
1.7	3.2
1.5	3.2
1.6	3.5
2.2	3.8
1.6	2.9
1.6	3.7
1.8	3.1
1.75	**3.42**

4-Sep-11	Cy1
trunk	tail
1.8	3.9
1.9	3.8
1.9	3
1.7	3.4
1.8	3.4
1.9	3.5
1.8	3.6
1.6	3.4
1.8	3.5
1.7	3.5
1.9	2.9
1.80	**3.45**

7-Sep-11	Cy1
trunk	tail
1.9	0.1
1.9	0.5
1.90	**0.30**

9-Sep-11	Cy1
trunk	tail
2	0
2	0
2.00	**0.00**

12-Sep-11	Cy1
trunk	tail
1.9	0
1.9	0
1.90	**0.00**

15-Sep-11	Cy1
trunk	tail
2	0
1.9	0
1.95	**0.00**

19-Sep-11	Cy1
trunk	tail
3.6	0
3.2	0
3.40	**0.00**

22-Sep-11	Cy1
trunk	tail
3.8	0
3.5	0
3.65	**0.00**

26-Sep-11	Cy1
trunk	tail
4.8	0
4	0
4.40	**0.00**

day	Hind Limb	Fore Limb	Met Comp	no limb	N
1	0	0	0	12	12
3	3	0	0	9	12
6	12	0	0	0	12
9	12	0	0	0	12
13	11	2	0	0	11
16	2	2	0	0	2
18	2	2	2	0	2
21	2	2	2	0	2
24	2	2	2	0	2
28	2	2	2	0	2
31	2	2	2	0	2
35	2	2	2	0	2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

23-Aug-11	Cy0.2
trunk	tail
1.3	2.7
1.2	2.2
1.3	1.9
1.1	2.9
1.2	3
1.2	2.8
1.2	1.7
1.4	3.3
1.2	2.5
1.3	2.5
1.3	1.9
1.4	2.5
1.26	**2.49**

25-Aug-11	Cy0.2
trunk	tail
1.5	3
1.4	2.5
1.5	3
1.3	2
1.3	2.2
1.4	2.5
1.4	3
1.5	3
1.4	3.2
1.2	2.9
1.7	2.1
1.5	3
1.43	**2.70**

28-Aug-11	Cy0.2
trunk	tail
1.9	3.5
1.7	3.3
1.7	3.2
1.6	2.7
1.5	3.3
1.8	2.8
1.5	2.6
1.9	4
1.4	3
1.8	3.2
1.7	3.2
1.7	2.7
1.68	**3.13**

31-Aug-11	Cy0.2
trunk	tail
2	4
1.8	3.1
1.8	3
1.5	3.3
1.5	3.1
1.7	3.5
1.7	3.4
1.7	3
1.7	3.5
1.7	3.1
2	3.6
1.6	3.5
1.73	**3.34**

4-Sep-11	Cy0.2
trunk	tail
1.9	3.3
1.9	3.6
1.9	3.3
2	3.3
2	3.5
2.1	3.6
2	3.6
1.9	3.4
1.7	3.5
1.9	3.4
1.9	3.5
1.93	**3.45**

7-Sep-11	Cy0.2
trunk	tail
1.8	3.7
1.9	3.7
1.8	3.4
1.9	3.7
2	3.4
2.5	2.9
1.9	0.5
1.9	0.5
1.9	1.5
2	2.3
2	2.2
1.96	**2.53**

9-Sep-11	Cy0.2
trunk	tail
2	1
1.9	0.3
1.9	0.2
1.9	0.9
1.9	0
2	0.1
1.9	1.7
1.8	3.5
1.9	1.2
1.8	3.4
1.9	2.5
1.90	**1.35**

12-Sep-11	Cy0.2
trunk	tail
1.8	3
1.8	0.2
1.8	0.3
1.9	0
2	0
1.9	0
2.2	0
2.4	0
2	0
2.1	0.4
1.99	**0.39**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

15-Sep-11	Cy0.2
trunk	tail
3.3	0
3.2	0
2	0
2.8	0
2.1	0
2.1	0
2.1	0.2
2.6	0
2.3	0
2.4	0
2.49	**0.02**

19-Sep-11	Cy0.2
trunk	tail
2.5	0
2.6	0
2	0
2.3	0
2.3	0
2.5	0
4	0
3.3	0
3	0
3.6	0
2.81	**0.00**

22-Sep-11	Cy0.2
trunk	tail
4.2	0
3.8	0
3.6	0
3.4	0
3.6	0
2.3	0
2.7	0
3.37	**0.00**

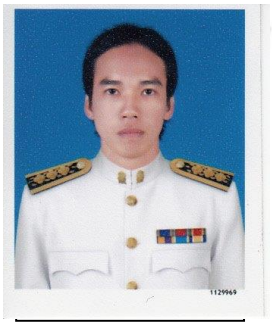
26-Sep-11	Cy0.2
trunk	tail
4.6	0
4.4	0
2	0
5.1	0
3.6	0
4	0
3.95	**0.00**

day	Hind Limb	Fore Limb	Met Comp	no limb	N
1	0	0	0	12	12
3	6	0	0	6	12
6	11	0	0	1	12
9	12	0	0	0	12
13	11	2	0	0	11
16	11	7	0	0	11
18	11	9	1	0	11
21	10	10	6	0	10
24	10	10	9	0	10
28	10	10	10	0	10
31	7	7	7	0	7
35	6	6	6	0	6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล	นายไพฑูรย์ แสนจันต๊ะ
วัน/เดือน/ปีเกิด	9 พฤษภาคม 2522
ประวัติการศึกษา	จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นจากโรงเรียนอุตรดิตถ์ จังหวัดอุตรดิตถ์ ปีการศึกษา 2537 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนอุตรดิตถ์ จังหวัดอุตรดิตถ์ ปีการศึกษา 2540 จบการศึกษาระดับปริญญาตรีจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2545 จบการศึกษาระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพครู จากคณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2546
ประวัติการทำงาน	เริ่มรับราชการตำแหน่งอาจารย์ 1 ระดับ 3 โรงเรียนราชประชานุเคราะห์ อำเภอแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ ปีพุทธศักราช 2546 ปัจจุบัน ครูชำนาญการ โรงเรียนนานกกก อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved