อิทธิพลของเส้นละติจูดต่อความแปรผันทางสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวดในประเทศไทยและสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

Effect of Latitude on Morphological variation of *Glyphoglossus molossus* in Thailand and Lao People's Democratic Republic

ธเนศ นนท์ศรีราช[1] วัลยา สุทธิขำ[2] เอกพจน์ ศรีฟ้า[1] และ คมศร เลาห์ประเสริฐ[1*]

Thanade Nonsrirach[1], Vallaya Sutthikhum[2], Akeapot Srifa[1] and Komsorn Lauprasert[1*]

[1] *ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*

[2] *ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*

[1]*Biology Department, Faculty of Science, Mahasarakham University*

[2]*Chemistry Department, Faculty of Science, Mahasarakham University*

Received : 11 June 2017

Accepted : 3 July 2017

Published online : 12 July 2017

บทคัดย่อ

อึ่งปากขวด (*Glyphoglossus molossus* Günther, 1868) จากแหล่งสำรวจ 12 พื้นที่ในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางของประเทศไทย และนครหลวงเวียงจันทน์ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวจำนวนทั้งสิ้น 185 ตัวอย่าง ถูกเก็บในช่วงเดือนเมษายนถึงสิงหาคม พ.ศ. 2559 ตามแหล่งที่อยู่อาศัยในธรรมชาติ ตัวอย่างทั้งหมดถูกวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา 6 ตัวแปร และทดสอบด้วยสถิติแบบไม่อิงพารามิเตอร์ (non-parametric statistics) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างความแปรผันทางภูมิศาสตร์กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวด ผลการศึกษาพบว่าความแปรผันทางสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวดในประเทศไทยมีความสัมพันธ์กับแนวเส้นละติจูดที่เปลี่ยนแปลง โดยอึ่งปากขวด ที่พบในแนวเส้นละติจูดที่ต่างกัน มีขนาดของความยาวหัวและความยาวกระดูกขาหลัง ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของข้อมูลทางสัณฐานวิทยาอึ่งปากขวดพบว่า สามารถแบ่งอึ่งปากขวด ออกเป็นกลุ่มตามแนวเส้นละติจูด

คำสำคัญ : อึ่งปากขวด ละติจูด ความแปรผันทางสัณฐานวิทยา ประเทศไทย ประเทศลาว

***Corresponding author. E-mail** : komsorn.l@msu.ac.th

Abstract

Glyphoglossus molossus Günther, 1868 from 12 areas of the northern, northeastern and central of Thailand as well as Vientiane, the capital of Lao People's Democratic Republic, totally 185 samples, and were collected during April to August 2016 from their natural habitats. All samples were measured six morphological characters and tested by non-parametric statistics and Principal Component Analysis (PCA) in order to investigate whether the geographical variation related to morphological characters of *G. molossus*. The results show that morphological variation of Thai *G. molossus* related to the changing of latitude degree. *G. molossus* from different latitude exhibit statistically significant difference ($p < 0.05$) in Head and Tibia lengths. In addition, Principal component analysis (PCA) of *G. molossus*'s morphology also indicated that *G. molossus* can be separated along the latitudinal line.

Keywords : *Glyphoglossus molossus*, latitude, morphology variation, Thailand, Lao

บทนำ

สิ่งมีชีวิตในธรรมชาติมีรูปแบบการกระจายที่หลากหลาย เนื่องจากความหลายหลายทางภูมิศาสตร์ซึ่งส่งผลให้เกิดสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ลักษณะทางภูมิศาสตร์ เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อรูปแบบการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตเพื่อตอบสนองการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม (Phillimore *et al*., 2012) การกระจายของสายพันธุ์และความอุดมสมบูรณ์ซึ่งสัมพันธ์กับภูมิอากาศ ส่งผลต่อการแพร่หลายของพืชและสัตว์แต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันไป (Khonsue & Thirakhupt, 2001; Tryjanowski *et al*., 2006; Leary *et al*., 2005)

ละติจูด (latitude) และระดับความสูง เป็นปัจจัยที่สำคัญซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม และการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทฤษฎีที่ได้รับความสนใจมากทฤษฎีหนึ่งคือ Bergmann's rule (Bergmann, 1847) ซึ่งกล่าวถึงแนวโน้มของขนาดร่างกายที่เพิ่มขึ้นตามระดับความสูงในกลุ่มของสัตว์ที่มีอุณหภูมิในร่างกายคงที่ (endotherms) โดยมีสมมุติฐานว่าขนาดของร่างกายจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อการปรับตัวในภูมิอากาศหนาวเย็น เนื่องจากต้องการผลิตความร้อนในร่างกายให้น้อยลง และรักษาอุณหภูมิร่างกายให้สูงกว่าอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม (พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและนก) อย่างไรก็ตามพบว่ามีการนำทฤษฎีนี้ไปใช้อธิบายในสัตว์ที่มีอุณหภูมิร่างกายแปรผันตามอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกบางกลุ่ม (ectotherms) ซึ่งพบว่ามีบางชนิดที่มีขนาดร่างกายใหญ่ขึ้น ในเขตภูมิอากาศหนาวเย็น (Feng *et al*., 2015) และสามารถนำมาอธิบายการปรับตัวเพื่อลดการสร้างความร้อนให้น้อยลงและรักษาอุณหภูมิในร่างกายให้อยู่รอด ในภูมิอากาศที่หนาวเย็นตามฤดูกาลที่กินระยะเวลายาวนาน เช่น การจำศีลเพื่อการเก็บพลังงานที่มากขึ้น (Ashton, 2001)

อึ่งปากขวด (*Glyphoglossusmolossus*) เป็นอึ่งกลุ่มปากกู่แคบ (narrow-mouthed frogs) ขากรรไกร (premaxilla) เป็นทรงตัดเว้าคล้ายปากขวด ตัวอ้วนกลม ชอบอาศัยอยู่ใต้ดินทรายร่วน (Nakvijit, 2010) มีการกระจายตัวอยู่ทั่วไปในภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (Chuaynkern & Chuaynkern, 2012) จัดเป็นพวก ectotherms ที่ไม่สามารถผลิตความร้อนภายในร่างกายให้เพียงพอที่จะรักษาอุณหภูมิของร่างกายคงที่ได้ทำให้ร่างกายต้องเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิไปตามอุณหภูมิของสภาพแวดล้อม ด้วยเหตุนี้ความแตกต่างของภูมิศาสตร์ตามเส้นละติจูดที่เปลี่ยนแปลงไปจึงมีอิทธิพลโดยตรงต่ออึ่งปากขวดในด้านต่างๆ เช่น อุณหภูมิที่ต่ำทำให้กิจกรรมลดลง (Ryser, 1996)

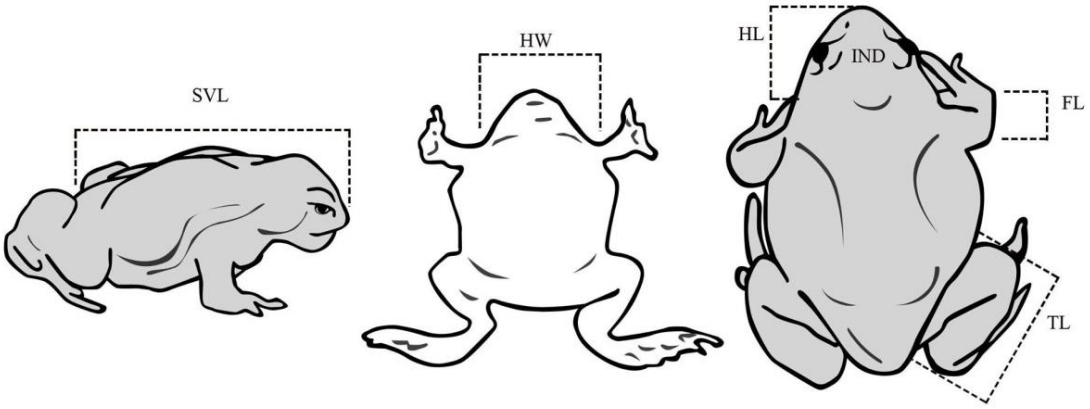
ชนิดพันธุ์ของอาหารแตกต่างกันที่มีผลต่อการเติบโต อัตราการเติบโต กลยุทธ์และการประสบความสำเร็จในการเลือกคู่ (Phillimore *et al*., 2012; Leary *et al*., 2005)

ความแปรผันทางภูมิศาสตร์ (geographic variation) เป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งในการกำหนดรูปแบบการกระจายตัว โครงสร้างประชากร หรืออาจรวมถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ดังนั้นเพื่อทดสอบสมมุติฐานของ Bergmann กับสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก การศึกษาครั้งนี้จึงเลือกศึกษาอึ่งปากขวด ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีการกระจายอยู่เกือบทุกภาคของประเทศไทย โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยากับความแปรผันทางภูมิศาสตร์ตามเส้นละติจูด คาดหวังว่าจะสามารถนำคำตอบที่ได้มาอธิบายรูปแบบการกระจายตัวของอึ่งปากขวดและช่วยในการวางแผนจัดการพื้นที่สำหรับการใช้ประโยชน์อึ่งชนิดนี้อย่างยั่งยืน

วิธีดำเนินการวิจัย

1 การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างอึ่งปากขวดจำนวน 175 ตัวอย่าง ถูกสำรวจและเก็บตามแหล่งที่อยู่อาศัยในธรรมชาติ บริเวณภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนสิงหาคม หรือช่วงต้นฝนแรกของปี ตามพื้นที่ที่มีฝนตกหรือมีแหล่งน้ำขังที่เกิดจากฝนตกใหม่ และตามบริเวณพื้นดินที่มีความชื้น ในเวลากลางคืน นอกจากนี้ยังได้นำตัวอย่างอึงปากขวดที่เก็บจากสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวจำนวน 10 ตัวอย่าง เข้ามาวิเคราะห์ร่วมด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นที่ศึกษากว้างยิ่งขึ้น (ตารางที่ 1) ตัวอย่างทั้งหมดจะถูกการุณยฆาต โดยการแช่ใน 3-amino benzoic acid ethyl ester methanesul- fonate salt (MS-222) ระบุหมายเลขภาคสนาม ถ่ายรูป จากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างไว้ใน 95 % alcohol เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างและนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการ เก็บข้อมูลปัจจัยทางกายภาพและพิกัดพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง ตัวอย่างทั้งหมดจะถูกเก็บไว้ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ขั้นตอนการดำเนินการดังกล่าวข้างต้นนั้น ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการกำกับและส่งเสริมการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (คกส. มมส) ใบรับรองหมายเลข 0010/2559นำตัวอย่างทั้งหมดมาถูกวัดด้วย Venire Caliper ความละเอียด 0.02 มิลลิเมตร บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา 6 ตัวแปรที่สำคัญดังนี้ 1) ความยาวจากปลายปากถึงทวาร (Snout-vent length; SVL) 2) ความกว้างหัว (Head width; HW) 3) ความยาวหัว (Head length; HL) 4) ค่าระยะห่างระหว่างรูจมูก (Internarial distance; IND) 5) ความยาวกระดูกรยางค์ขาหน้า (Forelimb length; FL) และ 6) ความยาวกระดูกขาหลัง (Tibia length; TL) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะตัวแปรการวัดสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวด

2 การวิเคราะห์ความแปรผันลักษณะสัณฐาน

ข้อมูลขนาดสัณฐานวิทยาภายนอกของอึ่งปากขวดจำนวน 185 ตัวอย่างถูกนำมาทดสอบด้วยวิธีการทางสถิติ ดังนี้ 1) ทดสอบการแจกแจงของข้อมูล ว่ามีการแจกแจงที่แตกต่างจากการแจงแจงแบบปกติหรือไม่ โดยใช้สถิติ Shapiro-Wilk test หรือ W testที่ระดับความเชื่อมั่น 95% 2) ทดสอบความเป็นเอกพันธ์ของความแปรปรวน (Homogeneity of variance) โดยใช้ Levene's F-Test (Levene,1960) 3) หากข้อมูลมีการแจกแจงที่ไม่ต่างจากการแจกแจงแบบปกติ ($p < 0.05$) และข้อมูลทุกชุดมีความแปรปรวนที่เป็นเอกพันธ์กันแล้ว ($p < 0.05$) จะใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) ในทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย หรือในกรณีที่ข้อมูลไม่เป็นไปตามข้อตกลงเบื้องต้นจะใช้ค่าสถิติของ Brown-Forsythe (Brown and Forsythe, 1974) ซึ่งเป็นสถิติแบบไม่อิงพารามิเตอร์ (non-parametric statistics) ในการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 4) การเปรียบเทียบเชิงพหุคูณ (multiple comparisons) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวดทีละคู่พื้นที่ภูมิศาสตร์โดยใช้การทดสอบแบบ Dunnett's test (Dunnett,1955) หากชุดข้อมูลแต่ละชุดมีความแปรปรวนไม่เท่ากัน 5) การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis; PCA) โดยอาศัยการสร้างสเกลตัวแปรใหม่ที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นกันกับชุดของตัวแปรหลายตัวที่มีอยู่ โดยอิงความแปรปรวนเดิมและสร้าง PCA Biplot บนระนาบเพื่อใช้อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพื้นที่ทางภูมิศาสตร์

ตารางที่ 1 ตารางแสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างอึ่งปากขวดในประเทศไทยและพิกัดที่ตั้ง

พื้นที่การเก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	พิกัด
1. ต.ท่าวังทอง อ.เมือง จ.พะเยา	17	19°12'01"N 99°56'18"E
2. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดลำพูน	13	18°29'46"N 99°00'46"E
3. ต.พระพุธบาท อ.ศรีเชียงใหม่ จ.หนองคาย	13	17°59'26"N 102°24'48"E
4. บ้านดงลาน อ.สามเงา จ.ตาก	32	17°17'08"N 99°08'28"E
5. เทือกเขาภูพาน จ.สกลนคร	32	16°56'32"N 103°44'98"E
6. พิพิธภัณฑ์ภูเวียง อ.ภูเวียง จ.ขอนแก่น	4	16°40'42"N 102°16'01"E
7. อ.เมือง จ.กาฬสินธุ์	10	16°26'51"N 103°31'47"E
8. อ.ชนแดน จ.เพชรบูรณ์	2	16°11'57"N 100°50'36"E
9. บ้านน้ำจั่น ต.ตลาด อ.เมือง จ.มหาสารคาม	10	16°01'58"N 130°17'52"E
10. อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี	17	15°10'58"N 104°52'05"E
11. อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	25	13°59'17"N 99°28'37"E
12. สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว	10	18°08'00"N 102°31'00"E
รวมจำนวนตัวอย่างทั้งหมด	**185**	

หมายเหตุ ตัวอย่างจากสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ถูกนำเข้ามาวิเคราะห์ร่วมเพื่อให้มีพื้นที่ศึกษากว้างขึ้น

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ข้อมูลการวัดสัณฐานวิทยา 6 ลักษณะของอึ่งปากขวดจำนวน 185 ตัวอย่าง มีค่าเฉลี่ย SVL มีขนาดเฉลี่ย 56.36 มิลลิเมตร, HW มีขนาดเฉลี่ย 21.99 มิลลิเมตร, HL มีขนาดเฉลี่ย 17.99 มิลลิเมตร, IND มีขนาดเฉลี่ย 5.68 มิลลิเมตร, FL มีขนาดเฉลี่ย 13.14 มิลลิเมตร และ TL มีขนาดเฉลี่ย 22.00 มิลลิเมตร ซึ่งได้แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตัวอย่างคือ กลุ่มที่ 1 แนวละติจูดต่ำกว่า 15 องศาเหนือ (n=25) กลุ่มที่ 2 แนวเส้นละติจูด 15-18 องศาเหนือ (n=120) และกลุ่มที่ 3 แนวเส้นละติจูดตั้งแต่ 18 องศาเหนือขึ้นไป (n=40) พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ 3 พบลักษณะสัณฐาน มีค่าเฉลี่ยมากกว่ากลุ่มตัวอย่างอื่น 4 ตัวแปร คือ HW (23.27 มิลลิเมตร), HL (21.37 มิลลิเมตร), IND (7.16 มิลลิเมตร) และ FL (14.07 มิลลิเมตร) และกลุ่มตัวอย่างที่ 1แนวละติจูดน้อยกว่า 15 องศา พบลักษณะสัณฐานมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มตัวอย่างอื่น 4 ตัวแปร คือ HW (18.33 มิลลิเมตร), HL(14.73 มิลลิเมตร), FL (9.13 มิลลิเมตร) และ TL (16.67 มิลลิเมตร) ในขณะที่กลุ่มตัวอย่างที่ 2 แนวเส้นละติจูด 15-18 องศาเหนือ พบลักษณะสัณฐาน มีค่าเฉลี่ยมากกว่ากลุ่มตัวอย่างอื่น 2 ตัวแปร คือ SVL (57.35 มิลลิเมตร) และ TL (22.48 มิลลิเมตร) และพบลักษณะสัณฐาน มีค่าเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มอื่น 1 ตัวแปร คือ IND (5.09 มิลลิเมตร) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงค่าทางสัณฐานวิทยาของลักษณะที่ศึกษาในอึ่งปากขวดของประเทศไทย

Latitude	Mean ± SD (mm) (Min.-Max.)						
	SVL	HW	HL	IND	FL	TL	N
>18°	56.36±5.94 (40.05-69.12)	23.27±3.32 (15.68-28.55)	21.37±3.03 (12.00-29.19)	7.16±0.82 (5.1-9.37)	14.07±2.13 (7.47-17.30)	21.26±1.82 (19.66-27.80)	40
15-18°	57.35±7.54 (23.60-71.34)	22.39±3.35 (15.01-30.36)	17.79±2.39 (12.52-23.72)	5.09±0.67 (3.29-7.94)	13.68±1.85 (9.26-19.44)	22.48±2.34 (17.86-30.61)	120
<15°	47.44±6.40 (35.15-63.05)	18.33±2.45 (13.37-23.29)	14.73±3.25 (8.72-21.62)	6.8±1.06 (4.20-9.21)	9.13±2.13 (5.71-13.27)	16.67±2.79 (10.78-24.67)	25
Total	56.36±7.98	21.99±3.55	17.99±3.22	5.68±1.16	13.14±2.50	22.00±3.20	185

หมายเหตุ SVL = ความยาวจากปลายปากถึงทวาร, HW = ความกว้างหัว, HL= ความยาวหัว, IND = ค่าระยะห่างระหว่างรูจมูก, FL = ความยาวกระดูกรยางค์ขาหน้า, TL = ความยาวกระดูกขาหลัง

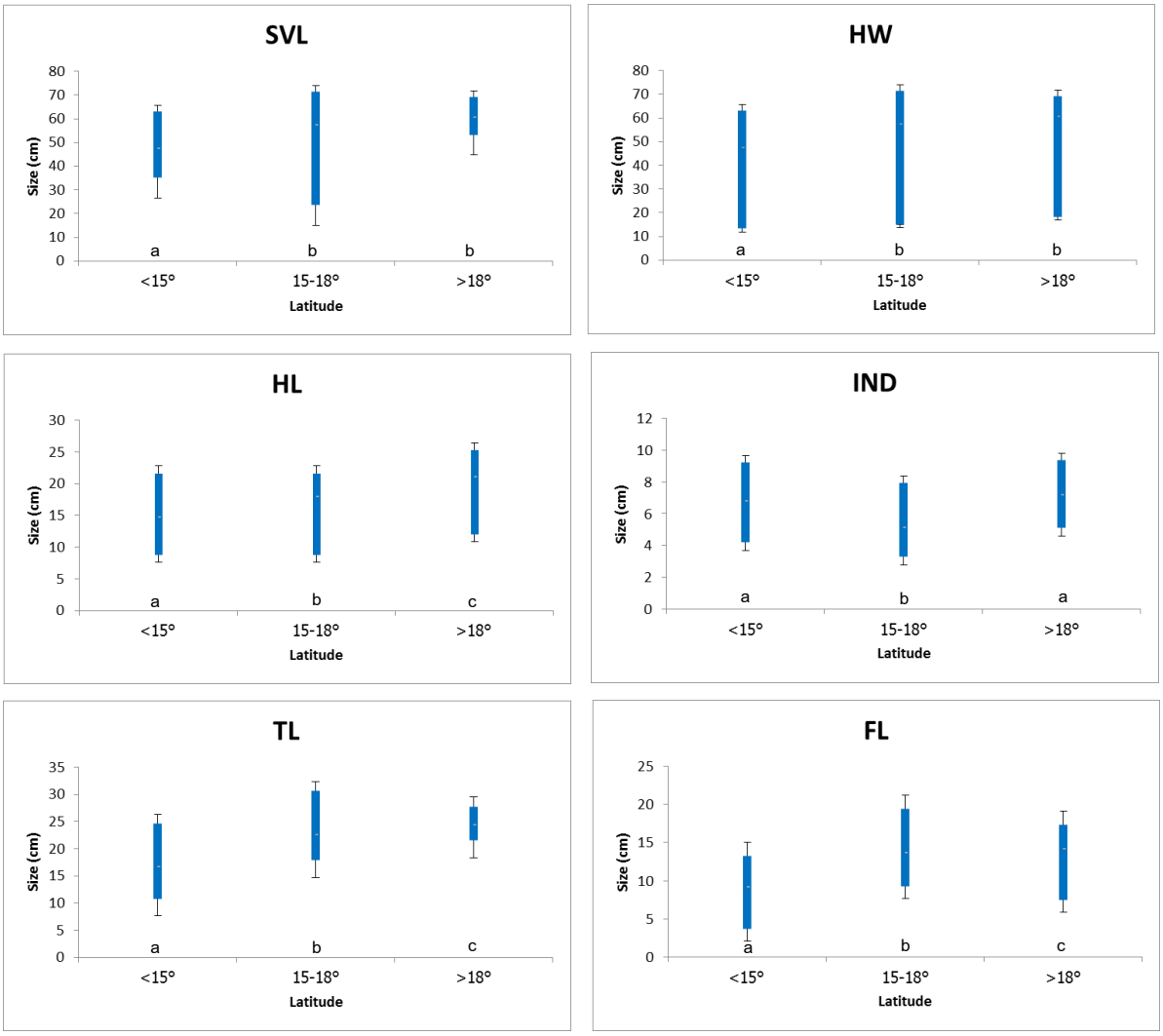
ข้อมูลที่ได้จากการวัดสัณฐานวิทยา ถูกนำมาทดสอบข้อตกลงเบื้องต้นพบว่ามีการแจกแจงต่างจากการแจกแจงแบบปกติ (Shapiro–Wilk test) และการทดสอบความแปรปรวน (Homogeneity of Variances) มีค่าความแปรปรวนของแต่ละกลุ่มประชากรไม่เท่ากัน ดังนั้นสถิตินอนพาราเมตริกจึงถูกนำมาใช้ในการทดสอบ จากผล Brown-Forsythe (Robust Test of Equality of Means) สามารถสรุปได้ว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวดในพื้นที่ภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3)

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบพหุคูณ (Multiple Comparison) ใช้สถิติ Dunnett's T3 เพื่อตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทีละคู่ พบว่าค่าสัณฐานวิทยามีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ (ภาพที่ 2) โดยลักษณะสัณฐานตัวแปร HL และ TL แสดงถึงความแตกต่างของขนาดทั้งสามกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญกลุ่มตัวอย่างที่ 1 แนวละติจูดน้อยกว่า 15 องศาเหนือมีขนาดลักษณะเล็ก ขณะที่กลุ่มตัวอย่างที่ 2 แนวเส้นละติจูด15-18 องศาเหนือและกลุ่มตัวอย่างที่ 3 แนวเส้นละติจูดมากกว่า 18 องศาเหนือขึ้นไป มีขนาดลักษณะใหญ่ขึ้นตามลำดับ ในขณะที่ลักษณะตัวแปร SVL, HW และ FL พบว่าขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่ 1 มีความแตกต่างอย่างจากกลุ่มอื่น ชัดเจน แต่ในกลุ่มตัวอย่างที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และมีค่าเฉลี่ยของขนาดใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ตัวแปร IND ไม่แสดงความสัมพันธ์กับแนวเส้นละติจูด

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ของค่าทดสอบสถิติต่อสัณฐานวิทยา

Character	Latitude	Test of Normality (Shapiro–Wilk)			Test of Homogeneity of variance				Robust Test of Equality of Means (Brown-Forsythe)			
		W-statistic	df	p	F-Statistic	df1	df2	p	F-Statistic	df1	df2	p
SVL	<15°	0.108	25	0.565	2.898	2	182	0.058	37.384	2	74.367	< 0.0005
	15-18°	0.115	130	< 0.0005								
	>18°	0.129	30	0.12								
HW	<15°	0.119	25	0.96	1.461	3	183	0.235	26.374	3	81.63	< 0.0005
	15-18°	0.409	130	0.301								
	>18°	0.112	30	0.119								
HL	<15°	0.111	25	0.825	0.246	4	184	0.782	7.221	4	171.992	0.001
	15-18°	0.384	130	< 0.0005								
	>18°	0.116	30	0.043								
IND	<15°	0.117	25	0.788	2.885	5	185	0.580	79.2	5	57.008	< 0.0005
	15-18°	0.125	130	< 0.0005								
	>18°	0.106	30	0.642								
FL	<15c	0.092	25	0.867	0.731	6	186	0.483	52.884	6	66.446	< 0.0005
	15-18°	0.051	130	0.381								
	>18°	0.111	30	0.044								
TL	<15°	0.14	25	0.159	1.685	7	187	0.188	85.268	7	54.569	< 0.0005
	15-18°	0.063	130	0.035								
	>18°	0.109	30	0.549								

หมายเหตุ SVL = ความยาวจากปลายปากถึงทวาร, HW = ความกว้างหัว, HL= ความยาวหัว, IND = ค่าระยะห่างระหว่างรูจมูก, FL = ความยาวกระดูกรยางค์ขาหน้า, TL = ความยาวกระดูกขาหลัง



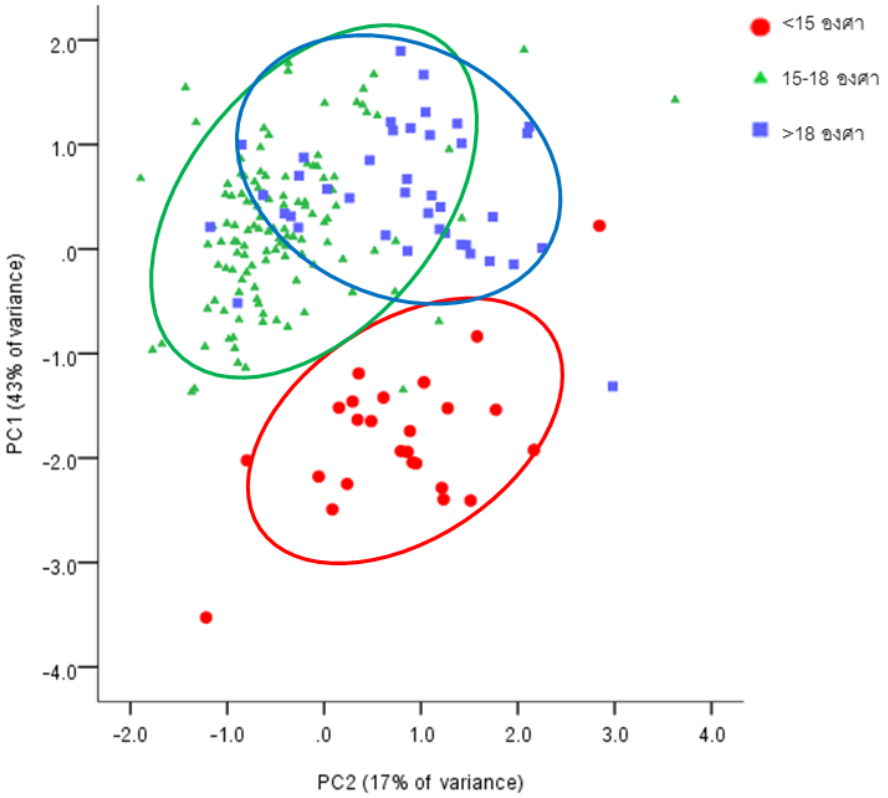
หมายเหตุ อักษร a, b และ c กำกับค่าเฉลี่ยซึ่งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ภาพที่ 2 แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบพหุคูณ ใช้สถิติ Dunnett's T3 สร้างจากตาราง Multiple Comparison

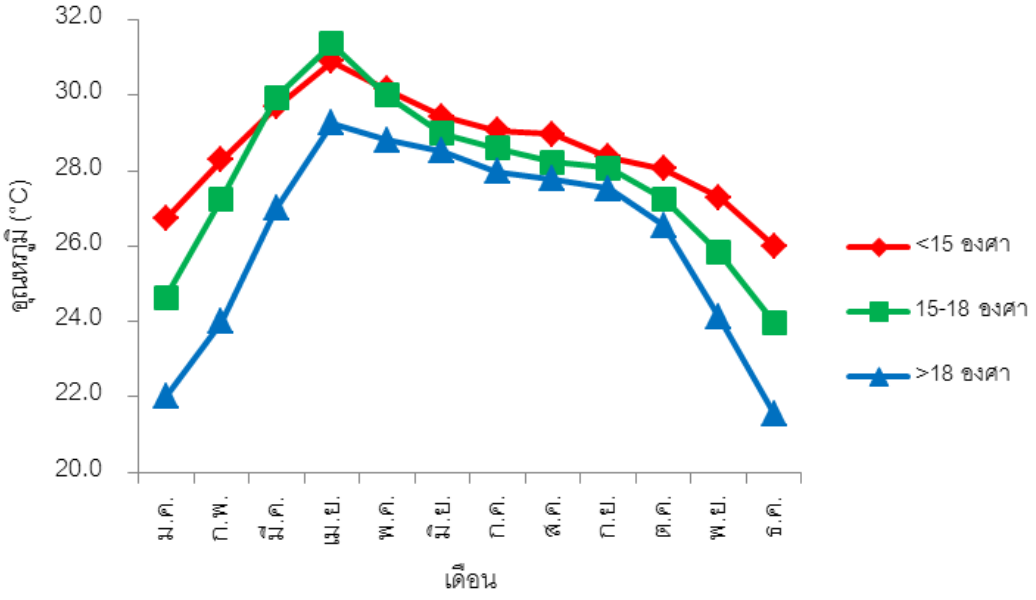
การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของสัณฐานวิทยา

กราฟการกระจายของข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ซึ่งจากการวิเคราะห์ PCA ตามกลุ่มแนวเส้นละติจูด โดยใช้ 6 ตัวแปร สามารถแยกองค์ประกอบหลักได้ 2 Factor คือ Factor ที่ 1 มี 5 ตัวแปร SVL, HW, HL, FL, TL และ Factor ที่ 2 มี 1 ตัวแปรคือ IND จากการวิเคราะห์หาความเหมาะสมของตัวอย่างด้วยค่าสถิติ KMO ได้ค่าเท่ากับ 0.68 ($p<0.05$) ซึ่งมีความเหมาะสมสอดคล้องกับค่าสถิติ Bartlett's test ($p<0.05$) ที่แสดงถึงตัวแปรแต่ละตัวมีความอิสระจากกันอย่างสมบูรณ์ แต่ละลักษณะมีค่า Eigenvectors ที่เกิน 1 พบว่ามี 2 องค์ประกอบ โดยองค์ประกอบที่ 1 สามารถอธิบายความแปรปรวนของกลุ่มตัวแปรได้ 43% และองค์ประกอบที่ 2 อธิบายได้ 17% ซึ่ง 2 องค์ประกอบนี้สามารถ อธิบายความแปรปรวนของกลุ่มตัวแปรได้ 60% เมื่อนำข้อมูลไปสร้างกราฟความสัมพันธ์การกระจายตัวของข้อมูลทางสัณฐานวิทยาอึ่งปากขวด พบว่าสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ (ภาพที่ 3) โดยที่กลุ่มตัวอย่างแนวละติจูดต่ำกว่า 15 องศาเหนือมีการ

กระจายตัวออกห่างจากอีก 2 กลุ่มอย่างชัดเจน ในขณะที่อีก 2 กลุ่มมีความคล้ายคลึงกันและประชากรบางส่วนมีการกระจายทับซ้อนกัน



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากกราฟการกระจายโดยการวิเคราะห์ PCA



ภาพที่ 4 แสดงผลของค่าความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิในรอบปีและแนวละติจูด

(Thai Meteorological Department, 2016)

การศึกษาพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างเส้นละติจูดกับสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวดทั้งหมด 5 ตัวแปรคือ SVL, HW, HL, FL, TL โดยค่า HL และ TL นั้นสามารถอธิบายความแตกต่างของความสัมพันธ์ระหว่างเส้นละติจูดกับสัณฐานได้ดีที่สุด ในขณะที่ SVL, HW และ FL ก็สามารถอธิบายถึงความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในแนวเส้นละติจูดต่ำกว่า 15 องศาเหนือ อย่าไรก็ตามในกลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในแนวเส้นละติจูด 15-18 องศาเหนือ และแนวเส้นละติจูดตั้งแต่ 18 องศาเหนือขึ้นไปนั้นไม่พบว่ามีความแตกต่างระหว่างขนาดสัณฐานวิทยาของทั้งสองกลุ่ม อาจเป็นผลมาจากอุณหภูมิในประเทศไทยที่ไม่แตกต่างกันมากนัก มีบางช่วงที่อุณหภูมิในระหว่างปีที่มีความใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 4) ส่งผลให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างออกได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้ลักษณะตัวแปร IND หรือระยะห่างระหว่างรูจมูก ไม่มีความสอดคล้องกับตัวแปรอื่นๆ (ภาพที่ 2) ซึ่งอาจเป็นเพราะรูจมูกของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกไม่ใช่อวัยวะหลักที่ใช้ในการแลกเปลี่ยนแก๊สเพียงอวัยวะเดียว เนื่องจากช่วงชีวิตส่วนใหญ่ของอึ่งปากขวดจะอาศัยอยู่ใต้ดิน (Altig & Rowley, 2014) ดังนั้นจึงอาศัยการแลกเปลี่ยนแก๊สทางปอดและผิวหนังเป็นหลัก ส่งผลให้ IND ไม่แสดงความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของเส้นแนวละติจูดแต่อย่างใด

กฎ Bergmann เป็นทฤษฎีกล่าวถึงความแปรผันของขนาดตัวต่อสภาพอากาศที่ลดลงหรือเพิ่มขึ้น ซึ่งจากงานวิจัยครั้งนี้พบว่า อึ่งปากขวดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่เป็นไปตามกฎของ Bergmann ซึ่งสอดคล้องกับสมมุติฐานของ Andres *et.al* (2015) ที่อ้างถึงถึงฤดูกาลที่ยาวนาน น่าจะส่งผลต่อขนาดตัวที่ใหญ่ขึ้น เนื่องจากมีอัตราการเผาผลาญ (metabolic rate) ลดต่ำลง ทำให้การสูญเสียพลังงานต่ำลงตามไปด้วย ส่งผลต่อการแปรผันทางสัณฐานวิทยาและรูปแบบการกระจายตัวของประชากร ซึ่งส่วนใหญ่ปัญหานี้จะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับปัจจัยทางภูมิประเทศและสภาพแวดล้อม แสดงให้เห็นว่าปัจจัยอื่น อาจมีความสำคัญต่อการแปรผันสัณฐานวิทยาและรูปแบบการกระจายตัวของประชากรได้

ประเทศไทยได้ถูกแบ่งเขตภูมิศาสตร์ออกเป็น 5 เขต ตามความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพันธ์ จากแนวภูเขาสูงไปถึงพื้นที่ราบ (Laojumpon *et al*., 2012) ซึ่งมีผลต่อการการกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด การมีภูเขาสูงและแม่น้ำขวางกันถือเป็น อุปสรรคทางภูมิศาสตร์ (Geographic Barrier) ทำให้อึ่งปากขวดมีความแตกต่างทั้งขนาดและรูปร่างและรูปร่างอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังส่งผ่านลักษณะทางพันธุกรรมตามการถ่ายทอดยีน จากบรรพบุรุษ ส่งผลต่อความแปรพันธุกรรมและการแสดงทางฟีโนไทป์ (phenotype) (Emel & Storfer, 2012) โดยกลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในแนวเส้นละติจูด 15-18 องศาเหนือ และแนวเส้นละติจูดตั้งแต่ 18 องศาเหนือขึ้นไปมีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำเนื่องจากภูมิประเทศเป็นภูเขาสูง อากาศหนาวเย็น ซึ่งทำให้มีสภาพอากาศที่แตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในแนวเส้นละติจูดต่ำกว่า 15 องศาเหนือซึ่งมีพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบ

รูปแบบการกระจายตัวของอึ่งปากขวดนั้นยังขึ้นอยู่กับพืชพันธุ์ ภูมิศาสตร์ ฤดูกาลและปริมาณของน้ำฝน (Khonsue & Thirakhupt, 2001) นอกจากนี้ยังมีความชื้นและอุณหภูมิที่ส่งผลต่อพฤติกรรมและการปรับตัวอีกด้วย (Kongjaroen & Nabhitabhata, 2007) นอกเหนือจากนี้ความแปรปรวนของฤดูกาลยังเป็นอีกปัจจัยสำคัญ (Ashton & Feldmann, 2003) เนื่องจากแต่ละภูมิภาคของประเทศไทยมีความแตกต่างของฤดูกาลพอสมควร ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลที่ไม่พร้อมกันจึงอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตระยะเวลาของฤดูผสมพันธุ์ และการหาอาหารอย่างจำกัดของอึ่งปากขวดได้ ซึ่งล้วนส่งผลโดยตรงกับขนาดลำตัวของอึ่งปากขวด(Liao *et al*., 2010; Degani *et al*., 2013)

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้พบว่าความแปรผันทางสัณฐานวิทยาของอึ่งปากขวดในประเทศไทยมีความสัมพันธ์กับแนวเส้นละติจูดที่เปลี่ยนแปลง ซึ่งสนับสนุนกฎของ Bergmann ในการอธิบายรูปแบบการกระจายตัวของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก อย่างไรก็ตามการศึกษานี้วิเคราะห์จากการเปลี่ยนแปลงในช่วงฤดูกาลเดียวของปี จึงอาจจะไม่สะท้อนถึงลักษณะการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมของโลกที่มีผลกระทบต่อความเป็นไปของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกทั้งหมดได้ ด้วยเหตุนี้จึงควรมีการศึกษาอายุเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของกระดูกในการเจริญเติบโต (เทคนิค skeletochonology) การศึกษาความสัมพันธ์ของสัณฐานวิทยากับระดับความสูง (Altitude) เพื่ออธิบายการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้นในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ร่วมเก็บตัวอย่างทุกๆ ท่าน ตลอดจนภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดลำพูน ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างและศึกษาวิจัย รวมทั้งผู้ทรงคุณวุฒิที่ประเมินผลงานวิจัยชิ้นนี้ งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

Altig, R. & Rowley, J. J. (2014). The breeding behavior of Glyphoglossus molossus and the tadpoles of *Glyphoglossus molossus* and *Calluella guttulata* (Microhylidae). *Zootaxa*, *3811*, 381-386.

Andres, V.S., Andrew, A.C. & Claudio, S.A. (2015). Geographic body size variation in ectotherms: effects of seasonality on an anuran from the southern temperate forest. *Frontiers in Zoology, 12*,37 DOI 10.1186/s12983-015-0132-y.

Ashton, K.G. (2001). Body size variation among mainland populations of the Western Rattlesnake (Crotalus viridis). *Evolution, 55*, 2523–33.

Ashton, K.G. & Feldmann, C.R. (2003). Bergmann's rule in nonavian reptiles: turtles follow it, lizards and snakes reverse it. *Evolution*, *57*, 1151–63.

Bergmann, C.(1847). Über die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse. *Göttinger Studien., 3* (1), 595–708. (in German)

Brown, M.B. & Forsythe, A.B. (1974). Robust tests for the equality of variances. *Journal of the American Statistical Association*, *69*, 364–367.

Chuaynkern, Y. & Chuaynkern, C. (2012). Checklist of reptiles in Thailand. *Journal of Wildlife in Thailand, 19*(1), 75–162. (in Thai)

Degani, G., Goldberg, T., Gasith, A., Elron, E. & Nevo, E. (2013). DNA variations of the green toad Pseudepidalea viridis (syn. Bufo viridis) from various habitats, *Zoological Studies, 52,*18

Dunnett C. W. (1955). A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control, *Journal of the American Statistical Association, 50*,1096–1121.

Emel, S.L. & Storfer, A. (2012). A decade of amphibian population genetic studies: synthesisand recommendations. Conservation Genetics, *13*(6), 1685–1689.

Feng, X., Chen, W., Hu, J., & Jiang, J. (2015). Variation and Sexual Dimorphism of Body Size in the Plateau Brown Frog along an Altitudinal Gradient. *Asian Herpetological Research, 6*(4), 291–297.

Khonsue, W. & Thirakhupt, K. (2001). A Checklist of the Amphibians in Thailand. *The Natural History Journal, Chulalongkorn University, 1*(1), 69-82.

Kongjaroen, W. & Nabhitabhata, J. (2007). Species diversity and altitudinal distribution of the amphibians along Lam Ta Klong stream area in Khao Yai National Park. *Journal of Wildlife in Thailand, 14*(1), 113-128. (in Thai)

Laojumpon, C., Suteethorn, S. & Lauprasert, K. (2012). Morphological Variation of Truncate-Snouted Burrowing Frog (Glyphoglossus molossus) of Thailand. *The Proceedings of the 4th Science Research Conference, Naresuan University, Thailand,* (March 12-13, 2012), 56-61.

Leary, C.J., Fox, D.J., Shepard, D.B. & Garcia, A.M. (2005). Body size, age, growth and alternative mating tactics in toads: satellite males are smaller but not younger than calling males. *Animal Behaviour, 70*, 663–671.

Levene, H. (1960). “Robust tests for equality of variances”. Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling. *Stanford University Press*, 278–292.

Liao, W.B., Zhou, C.Q., Yang, Z.S., Hu, J.C. & Lu, Z. (2010). Age, size and growth in two populations of the darkspotted frog Rana nigromaculata at different altitudes in southwestern China. *Herpetological Journal, 20*, 77-82.

Liedtke, H.C. (2011). Bioacoustic and morphometric account of Albertine Rift litter frog, *Artholeptis schubotzi* (Amphibia: Anura), Maiditsch&Ng'wava. *Tropical Biology Association.*

Nakvijit, P. (2010). Breeding of the Blunt - headed Burrowing Frog (*Glyphoglossus molossu* Gunther, 1869). Lamphun Inland Fishreies Research and Development Center, 53–0529–53036. (in Thai)

Phillimorea, A.B., Hadfieldb, J.D., Jonesc, O.R., & Smithersd, R.J. (2012) Differences in spawning date between populations of common frog reveal local adaptation. *PNAS*, 107-18.

Ryser, J. (1996). Comparative life histories of a low- and highelevation population of the common frog, Rana temporaria. *Amphibia–Reptilia, 17*, 183–195.

Thai Meteorological Department. (2016). Summary of Thailand's climate Retrieved. April, 12, 2017, from https://www.tmd.go.th/climate/climate.php?FileID=5. (in Thai)

Tryjanowski, P., Sparks, T., Rybacki, M. & Berger, L. (2006). Is body size of the water frog *Rana esculentacomplex* responding to climate change? *Naturwissenschaften, 93*, 110–113.