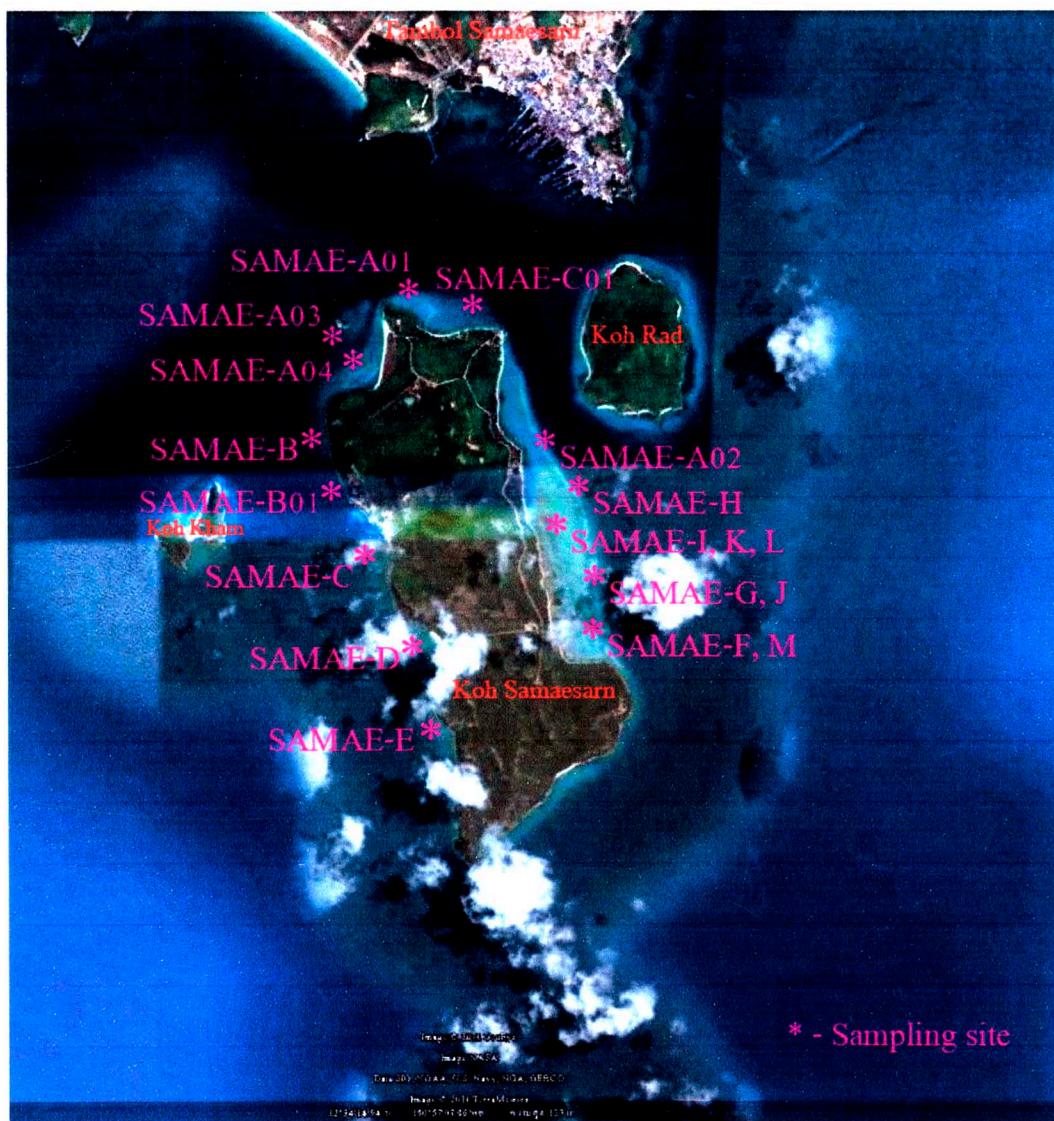


บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การสำรวจภาคสนามและเก็บตัวอย่างพองน้ำทะเล

การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพของน้ำทะเลและเอกโคโนเดิร์มที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเลบริเวณพื้นที่หมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี (ภาพที่ 1) รวม 6 ครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 1 ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 รวมทั้งสิ้น 18 สถานีสำรวจ (ตารางที่ 1) โดยการดำเนินการแบบเครื่องช่วยหายใจใต้น้ำ (SCUBA diving) เป็นหลัก รวมทั้งการเดินสำรวจ การดำเนินการผิวน้ำ (skin diving) สูมสำรวจและเก็บตัวอย่างตลอดทั้งพื้นที่ศึกษาในเวลากลางวัน (day time) ตั้งแต่เขตปะการังพื้นราบ (Reef flat) หรือเขตน้ำขึ้นน้ำลง จนถึงเขตปะการังลาดชัน (Reef slope) หรือพื้นทะเลลึกนอกแนวปะการัง ตัวอย่างที่พบจะทำการบันทึกสภาพใต้น้ำ ตำแหน่งและความลึกที่พบและสภาพถาวรสิ่งที่อยู่อาศัย จากนั้นนำตัวอย่างใส่ถุงซิบเพื่อนำมาทำการสลบและเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อไปจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการต่อไป



ภาพที่ 1 จุดสำรวจและเก็บตัวอย่างพองน้ำทะเลบริเวณหมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

ตารางที่ 1 จุดสำรวจและเก็บตัวอย่างพองน้ำทะเลและเอกสารโน้ตเดิร์มบริเวณพื้นที่ศึกษา

รหัสสถานี	วันที่	สถานีสำรวจ	สภาพแวดล้อมจุดสำรวจ
SAMAE-A01	17 พฤศจิกายน 53	เกาะแสมสาร ทิศเหนือ	แนวปะการังชายฝั่ง ลาดชันมาก ประกอบสลับกับ ก้อนหินและซากปะการัง มี <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-A02	17 พฤศจิกายน 53	เกาะแสมสาร ทิศตะวันออก	แนวปะการังชายฝั่ง, พื้นทราย ประกอบสลับกับ ก้อนหินและซากปะการัง มี <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-A03	18 พฤศจิกายน 53	เกาะปลาหมึก ทิศใต้	แนวปะการังชายฝั่ง, พื้นทราย ประกอบสลับกับ ก้อนหินและซากปะการัง มี <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-A04	18 พฤศจิกายน 53	หาดลูกกลม ทิศใต้ เกาะแสมสาร	แนวปะการังชายฝั่ง Reef flat มีปะการังรูปทรง แบบก้อนเด่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-B	26 มกราคม 54	หาดหินถัดจากอ่าวลูกกลม เกาะ แสมสาร ทิศตะวันตกเฉียงเหนือ	แนวปะการังชายฝั่งต่อจากหาดหิน ประกอบสลับ กับ ก้อนหินและซากปะการัง มี <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-B01	26 มกราคม 54	หาดหินหน้าอ่าวหาดกรวด เกาะ แสมสาร ทิศตะวันตกเฉียงเหนือ	แนวปะการังชายฝั่งต่อจากหาดหิน ประกอบสลับ กับ ก้อนหินและซากปะการัง มี <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-C	27 มกราคม 54	อ่าวหาดกรวด เกาะแสมสาร ทิศตะวันตก	แนวปะการังชายฝั่งต่อจากหาดหิน ประกอบสลับ กับ ก้อนหินและซากปะการัง มี <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-C01	27 มกราคม 54	เรือจอมบันพันทราย	เรือจอมบันพันทราย
SAMAE-D	22 มีนาคม 54	อ่าวหาดเตย เกาะแสมสาร ทิศตะวันตกเฉียงใต้	แนวปะการังชายฝั่งต่อจากหาดหิน ประกอบสลับ กับ ก้อนหินและซากปะการัง มีสาหร่ายปักคลุม ปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-E	22 มีนาคม 54	อ่าวเลยหาดเตย เกาะแสมสาร ทิศตะวันตกเฉียงใต้	แนวปะการังชายฝั่งต่อจากหาดหิน ประกอบสลับ กับ ก้อนหินและซากปะการัง มีสาหร่ายปักคลุม ปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-F	19 พฤษภาคม 54	เกาะแสมสาร ทิศตะวันออกเฉียงใต้	แนวปะการังชายฝั่ง มีสาหร่ายปักคลุม ปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-G	19 พฤษภาคม 54	เกาะแสมสาร ทิศตะวันออก	แนวปะการังชายฝั่ง มีสาหร่ายปักคลุม ปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-H	20 พฤษภาคม 54	หาดเทียน เกาะแสมสาร ทิศตะวันออก	แนวปะการังชายฝั่ง reef slope แสงแดดและ กลัปงหาดและปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-I	20 พฤษภาคม 54	หาดเทียน เกาะแสมสาร ทิศตะวันออก	แนวปะการังชายฝั่ง reef flat สาหร่ายทะเลสี น้ำตาลและปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-J	28 กรกฏาคม 54	หาดเทียน เกาะแสมสาร ทิศตะวันออก	แนวปะการังชายฝั่ง reef flat สาหร่ายทะเลสี น้ำตาลและปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-K	29 กรกฏาคม 54	หาดเทียน เกาะแสมสาร ทิศตะวันออก	แนวปะการังชายฝั่ง reef flat สาหร่ายทะเลสี น้ำตาลและปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-L	29 กันยายน 54	หาดเทียน เกาะแสมสาร ทิศตะวันออก	แนวปะการังชายฝั่ง reef flat สาหร่ายทะเลสี น้ำตาลและปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> เด่น
SAMAE-M	30 กันยายน 54	หาดเทียน เกาะแสมสาร ทิศตะวันออก	แนวปะการังนอกชายฝั่ง reef slope ปะการังรูปทรงก้อน เช่น <i>Porites lutea</i> แสงแดด กลัปงหาดเด่น

การสลบและการเก็บรักษาตัวอย่าง

- ฟองน้ำทะเล ก่อนทำการเก็บตัวอย่างจะทำการถ่ายภาพฟองน้ำไว้อีกครั้งเนื่องจากฟองน้ำบางชนิดมีการเปลี่ยนสีเมื่อต้องในแอลกอฮอล์ ทำการเก็บรักษาตัวอย่างด้วยเอทานอล 70 %

- เอกไคโนเดิร์ม กลุ่มดาวขนาดทำการสลบด้วยแมgnีเซียมคลอไรด์ 10 % และเก็บรักษาตัวอย่างด้วยเอทานอล 70-75 % ดาวทะเลทำการเก็บรักษาตัวอย่างด้วยการทำแห้งโดยอีดิฟอร์มอลิน 10 % หรือดองด้วยเอทานอล 70-75 % ดาวประจำ ทำการสลบด้วยแมgnีเซียมคลอไรด์ 10 % และเก็บรักษาตัวอย่างด้วยการดองเอทานอล 70-75 % หรือ การทำแห้งหลังจากดองแอลกอฮอล์ เม่นทะเล เม่นหัวใจและเหรียญทะเล ทำการเก็บรักษาตัวอย่างด้วยการดองเอทานอล 70-75% หรือการทำแห้ง และบลิงทะเล ทำการสลบด้วยแมgnีเซียมชัลเฟต 10 % ในน้ำทะเล หรือใช้เมนทอลโดยการโรยเกล็ดเมนทอลลงบนน้ำทะเลที่ต่ำตัวอย่าง ทึ่งไว้ประมาณ 6-12 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บรักษาตัวอย่างด้วยเอทานอล 70-75 % ถ้าตัวอย่างมีขนาดใหญ่ให้อีดิเอทานอล 95% เข้าไปในตัวอย่าง หลังจากนั้นนำตัวอย่างฟองน้ำและเอกไคโนเดิร์มมาทำการจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

การปฏิบัติการในห้องปฏิบัติการ

ฟองน้ำทะเล มีวิธีการศึกษาดังนี้

1. การตรวจสอบลักษณะทางโครงสร้างของร่างกาย (Skeleton) โดยประยุกต์จากวิธีของ Putchakarn, et .al. (2004) โดยการตัดเนื้อเยื่อตัวอย่างฟองน้ำ บริเวณผิวฟองน้ำ (Tangential section) และตัดตามขวา (Perpendicular section) ศึกษาลักษณะและองค์ประกอบของสปีคูล เส้นใยฟองน้ำ (Spongulin fibers) และโครงสร้างการจัดเรียงตัวของสปีคูลและเส้นใยฟองน้ำ บันทึกข้อมูลและเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง (แผ่นภาพที่ 1)
2. การตรวจสอบลักษณะและขนาดของสปีคูล (Spicules) ของฟองน้ำโดยประยุกต์จากวิธีของ Putchakarn, et .al. (2004) นำสปีคูลมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ศึกษาประเภทและวัดขนาดของสปีคูลโดยใช้ค่าเฉลี่ยเป็นไมโครอนจากจำนวนสปีคูลแต่ละประเภทไม่น้อยกว่า 25 ช้ำ บันทึกผลและนำข้อมูลไปเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงในการจำแนกชนิด (แผ่นภาพที่ 2)

3. การจำแนกชนิดฟองน้ำทะเล ทำการศึกษารายละเอียดสัณฐานวิทยาของตัวอย่างฟองน้ำที่ได้จากการสำรวจภาคสนามและห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ข้อมูล และทำการวินิจฉัยซึ่งอวิทยาศาสตร์ตัวอย่างฟองน้ำโดยการเปรียบเทียบเอกสารอ้างอิง ซึ่งในระดับ Orders, Families และ Genera จะทำการเปรียบเทียบจาก Hooper & Soest (2000) Systema Porifera และ Boury-Esnault & Rützler (1997) Thesaurus of sponge morphology เป็นหลัก (แผ่นภาพที่ 5-7) ส่วนในระดับชนิด (Species level) ทำการเปรียบเทียบจากเอกสารอ้างอิงต่างๆที่ได้เก็บรวบรวมไว้

เอกไคโนเดิร์ม มีวิธีการศึกษาดังนี้

1. การศึกษาลักษณะอวัยวะที่ใช้ในการจำแนกชนิด การศึกษาลักษณะอวัยวะภายนอก และภายในของเอกไนโเดิร์ม แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้คือ

- 1.1 กลุ่มดาวทะเล ดาวประจำ และดาวขนาด สามารถศึกษาได้โดยตรงจากกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ

- 1.2 กลุ่มเม่นทะเล ต้องล้างเอาหนาม และเยื่อคลุมบางส่วนออกด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้พู่กันจุ่มสารละลายแล้วถูบริเวณเปลือกของเม่นทะเล ประมาณ 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด หลังจากนั้นจึงสามารถศึกษารายละเอียดของเปลือกเม่นทะเล

- 1.3 กลุ่มบลิงทะเล การจำแนกชนิดของบลิงทะเล จำเป็นต้องศึกษาลักษณะของสปีคูลที่บริเวณผิวนังตามลำตัวส่วนต่างๆ ของบลิงทะเล บลิงทะเลทำการศึกษาอวัยวะภายนอกและภายใน ศึกษาลักษณะและจำนวนหนวด, ลักษณะของวงแหวนหินปูน (calcareous ring), ตำแหน่งของเท้าเทียม (tube feet) และสกัดสปีคูล

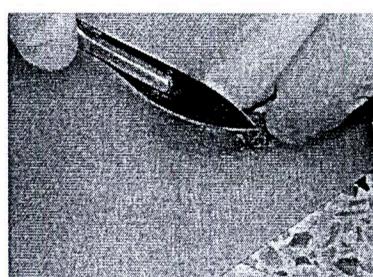
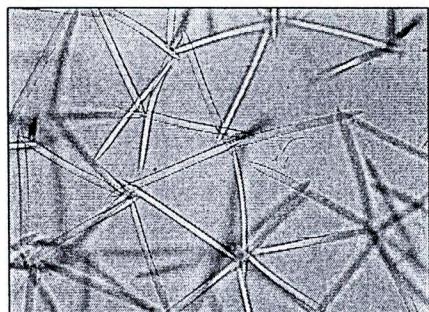
ของปลิงทะเล (แผ่นภาพที่ 4) ใช้มีดตัดผนังลำตัว หนวด กล้ามเนื้อ เท้าท่อ papilla ขนาด 2×3 มิลลิเมตร วางบน สไลด์แล้วหยดโซเดียมไฮโดคลอไรด์ (Chlorox bleach) ลงบนตัวอย่างจนท่วมทั้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาระบماณ 5-10 นาที จากนั้นหยดน้ำกลันเพื่อล้างโซเดียมไฮโดคลอไรด์ และดูดน้ำออกโดยระวังไม่ให้มีตะกอนสปิคูลติดมาด้วย ทำ เช่นนี้ 4-5 ครั้ง จากนั้นล้างด้วยเอทานอล 95% 2-3 ครั้ง ทิ้งไว้ให้แห้งแล้ว เมาท์สไลด์ด้วยน้ำยา permount จากนั้น นำมาตรวจลักษณะของสปิคูลด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกลักษณะและวัดขนาดของสปิคูลเพื่อไปจำแนกชนิด ต่อไป

2. การจำแนกชนิด eco โคนเดิร์มโดยทำการศึกษาลักษณะภายนอกและภายในของตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้ (แผ่นภาพที่ 8-12) เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงที่ใช้เป็นหลัก คือ สุเมตต์ บุจชาการ (2541); Clark & Rowe (1971) และ Guille, Laboute et Menou (1986)

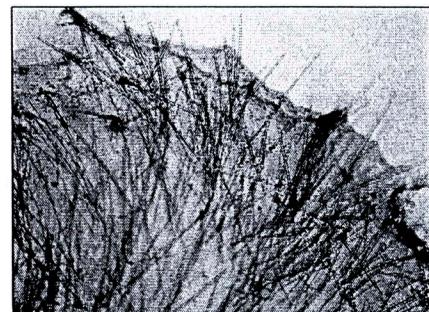
ตัวอย่างที่เก็บมาได้จะถูกเก็บรักษาไว้ที่พิธีภัณฑ์อ้างอิง สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบและอ้างอิงของน้ำทะเลและ eco โคนเดิร์มในน่านน้ำไทยต่อไป



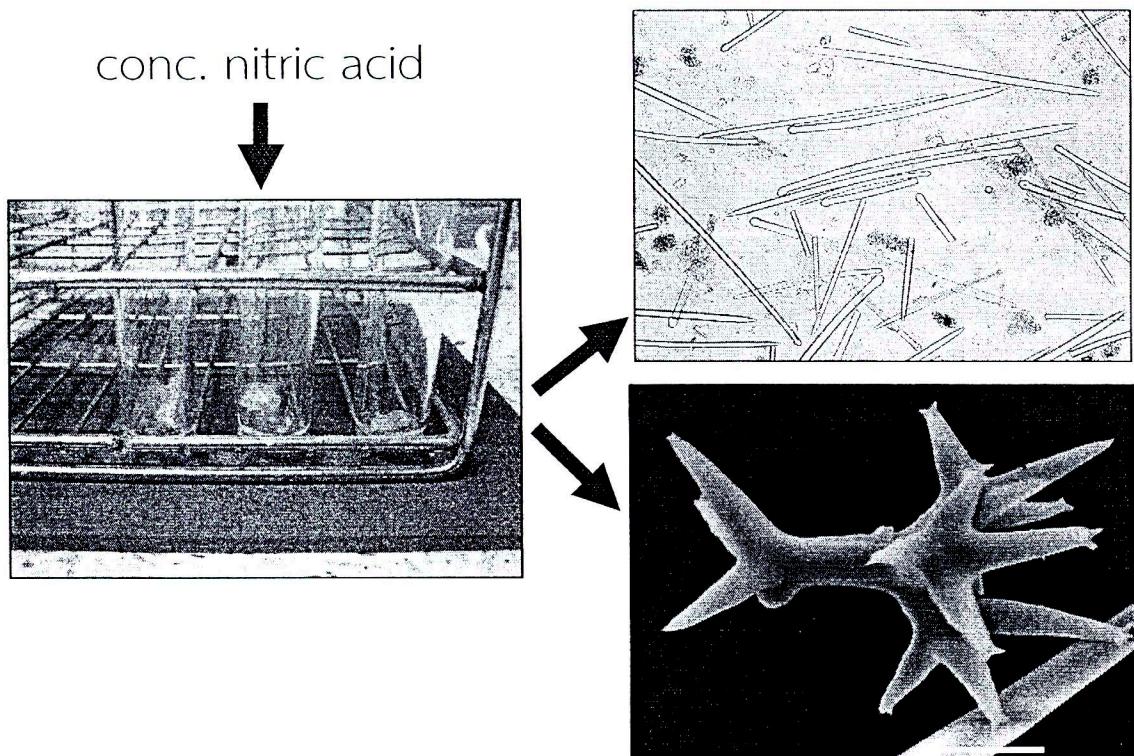
Tangential section



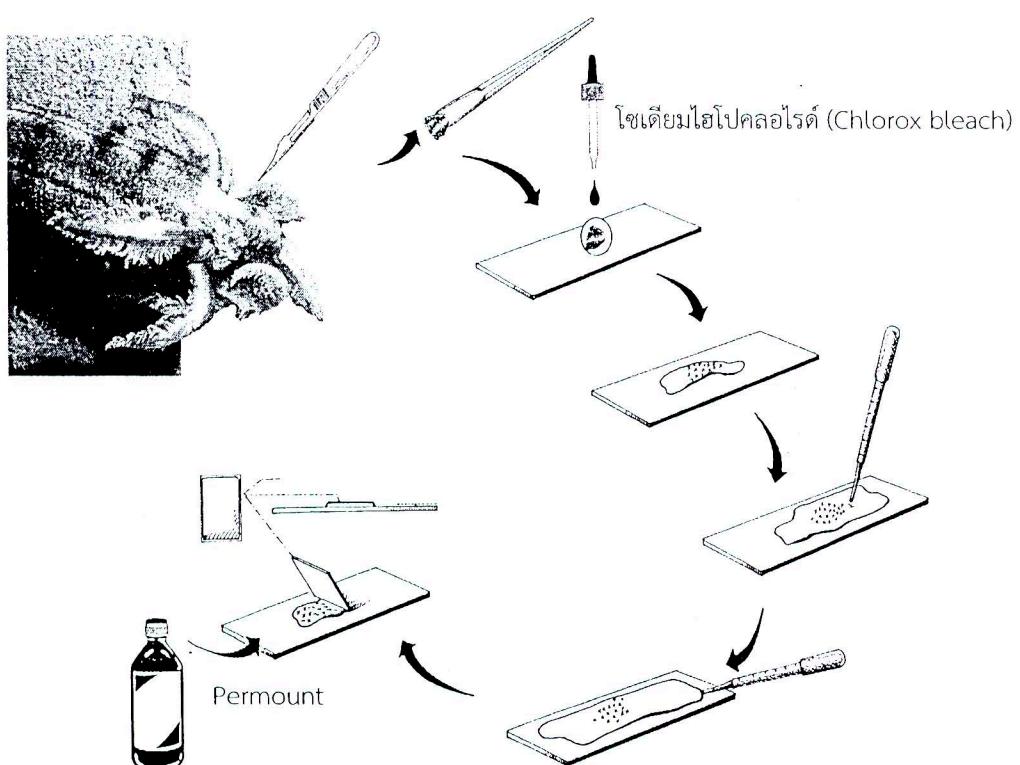
Perpendicular section



แผ่นภาพที่ 1 การตัดเนื้อเยื่ออ่อนน้ำเพื่อใช้ในการจำแนกชนิด



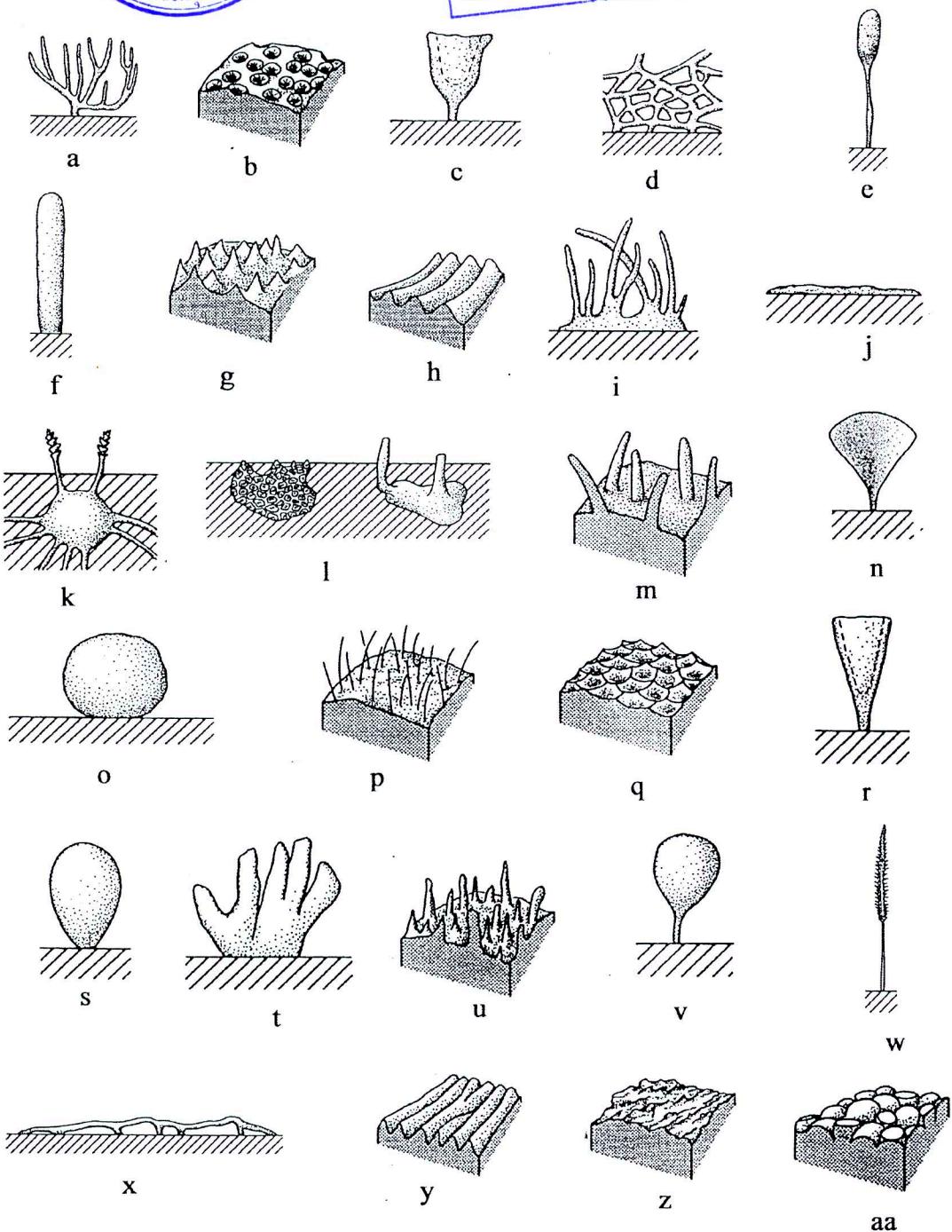
แผนภาพที่ 2 การตรวจสอบลักษณะและขนาดของสปิคูล



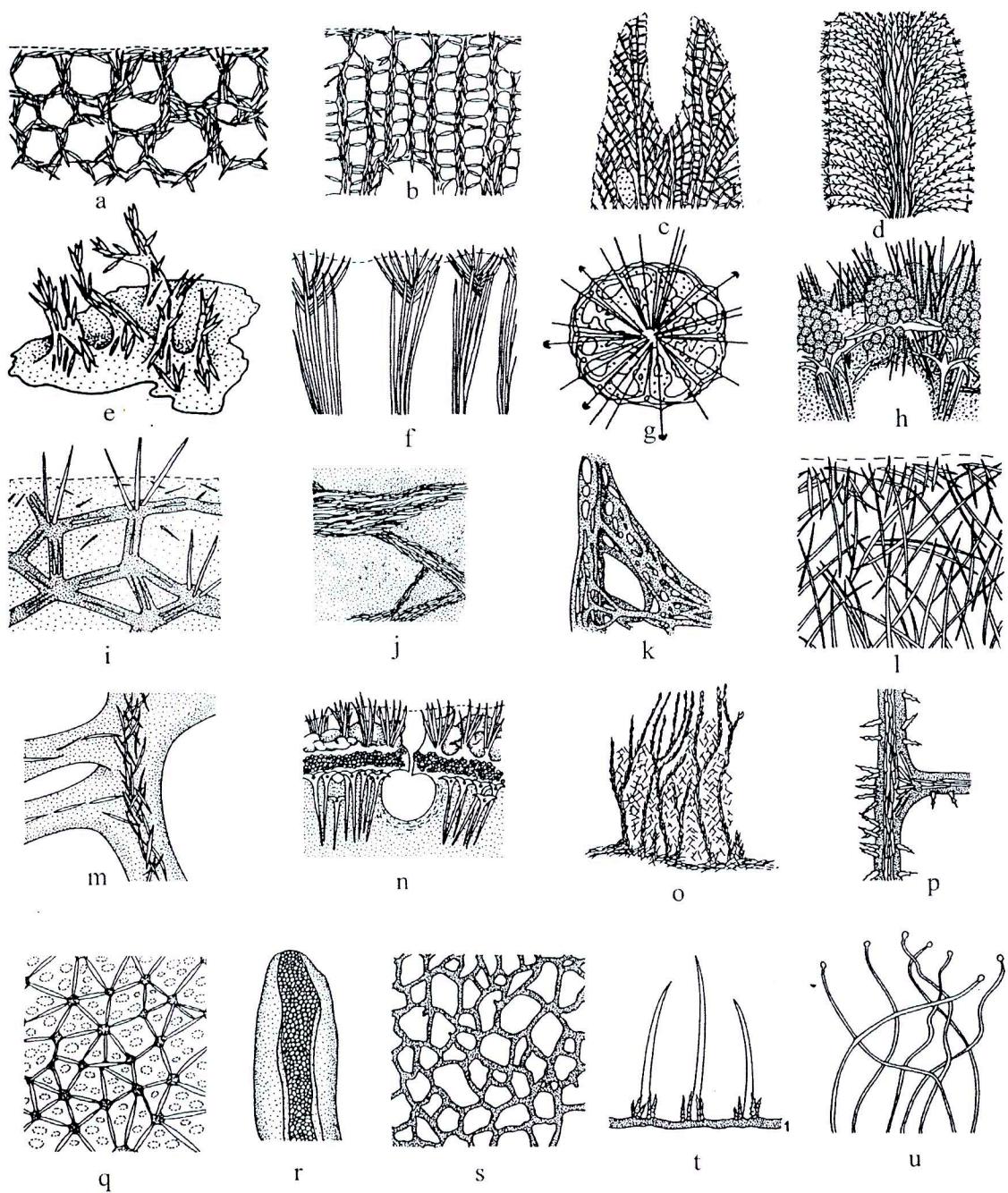
แผนภาพที่ 3 การเตรียมสไลด์ตรวจสอบสปิคูลเพิงทะเล



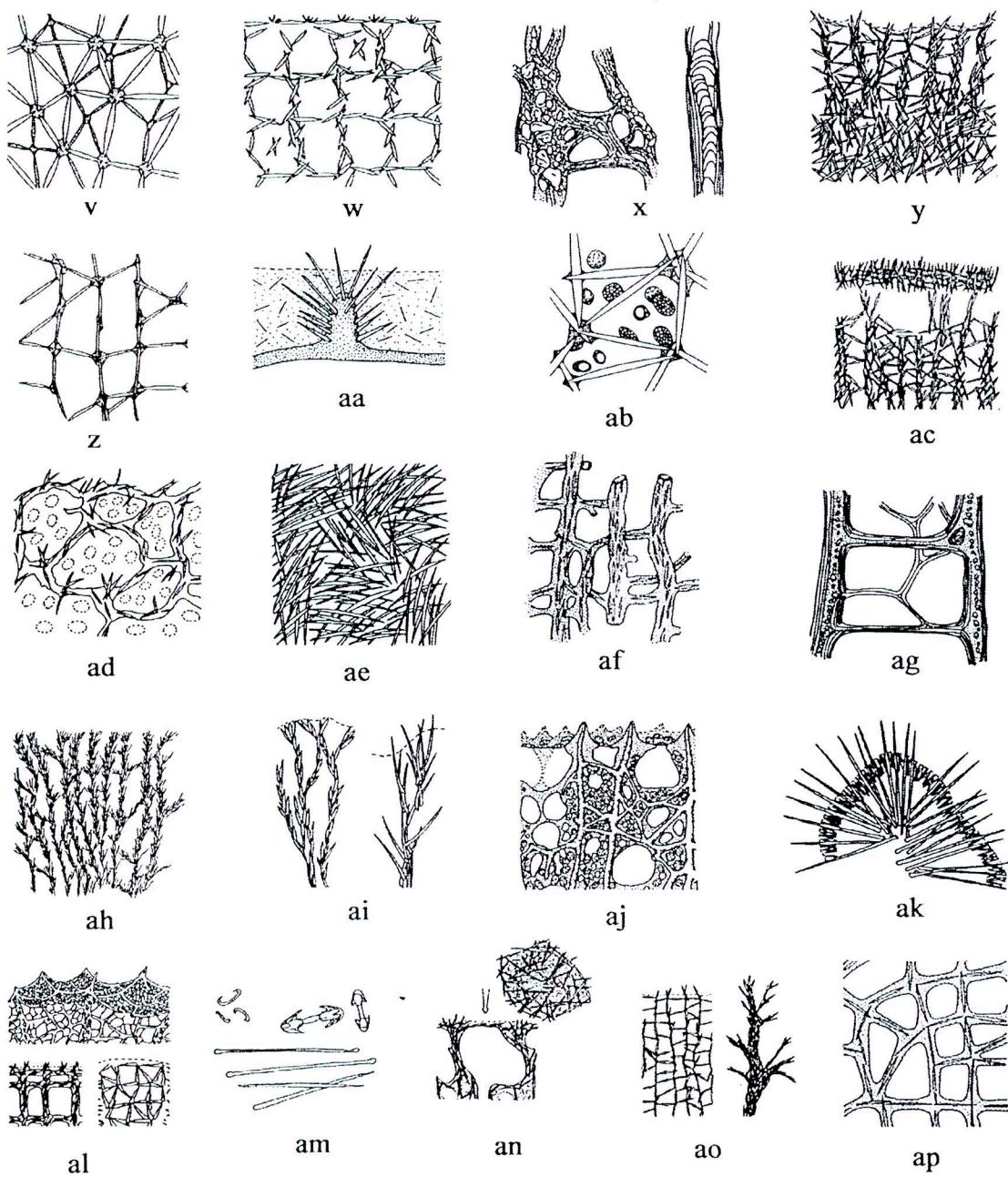
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ที่อ้างสูญในวันที่ 3 ต.ค. 2555
วันที่..... เลขที่เบื้องต้น.....
เลขเรียกหนังสือ.....
245657



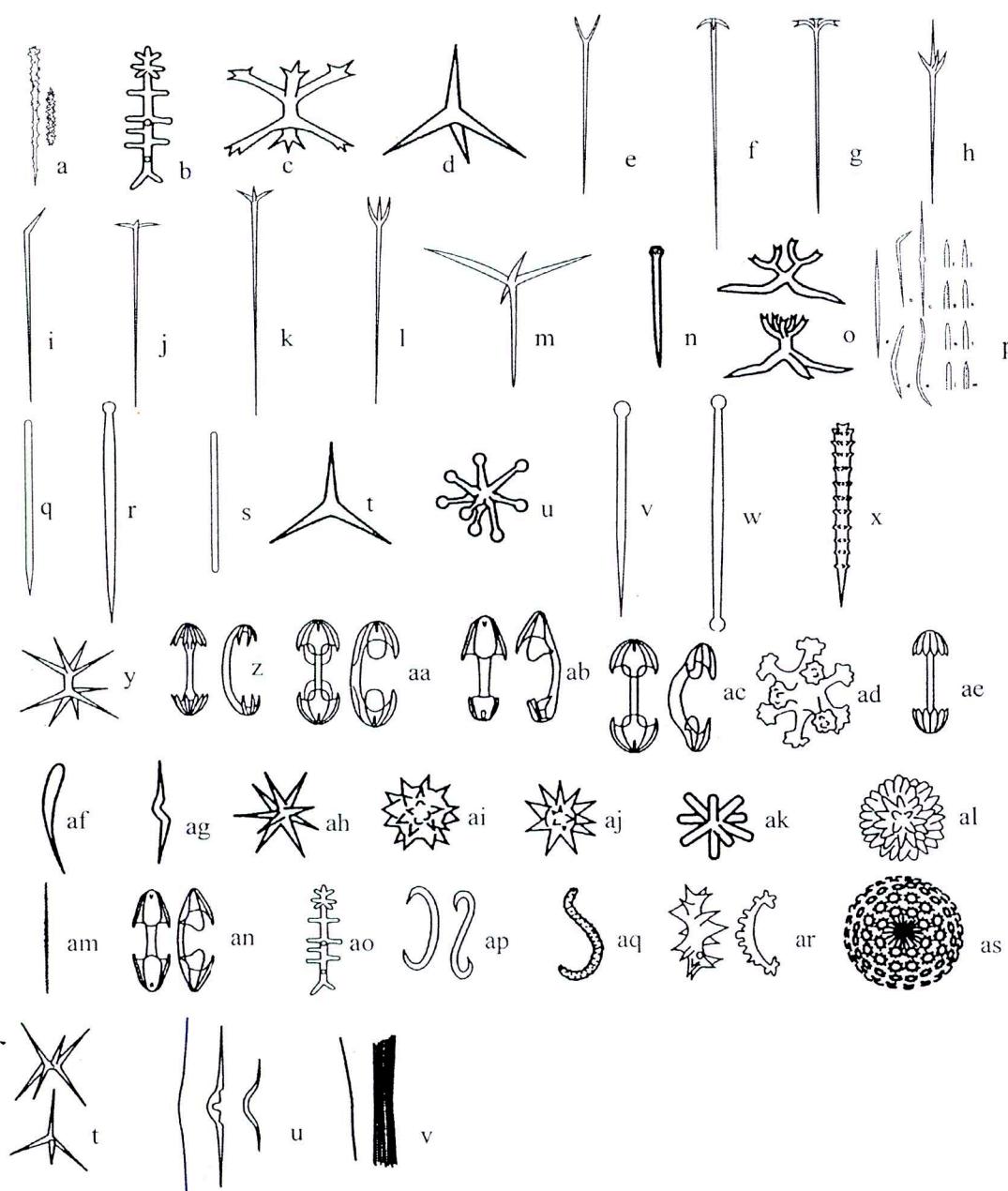
แผนภาพที่ 4 Macroscopical features: habit, surface characteristics and consistency of Demospongiae: a) Arborescent; b) Areolated; c) Caliculate; d) Clathrate; e) Clavate; f) Columnar; g) Conulose; h) Corrugated; i) Digitate; j) Encrusting; k) Endopsammic; l) Excavating; m) Fistule; n) Flabellate; o) Flagelliform; p) Hispid; q) Honeycombed; r) Infundibuliform; s) Ovate; t) Palmate; u) Papilla; v) Pedunculate; w) Pinnate; x) Repent; y) Ribbed; z) Rugose; aa) Verrucose.
(ดัดแปลงจาก Boury-Esnault & Rützler, 1997)



ແຜ່ນກາພີ 5 Architecture skeleton of Demospongiae: a) Alveolate; b) Ascending fiber; c) Accretive; d) Axinellid skeleton; e) Basal spongin plate; f) Bouquet; g) Choristid; h) Ectochroete; i) Clathriid skeleton; j) Collagen fascicle; k) Compound; l) Confused skeleton; m) Cored fiber; n) Cortex; o) Dendritic skeleton; p) Echinating spicule; q) Ectosomal skeleton; r) Bark; s) Homogeneous fiber; t) Hymedesmioid skeleton; u) Irciniid filament.
(ດັດແປລົງຈາກ Boury-Esnault & Rützler, 1997)



แผนภาพที่ 5(ต่อ) Architecture skeleton of Demospongiae: v) Isotropic reticulation; w) Isodictyal reticulation; x) Laminated fiber; y) Lax skeleton; z) Line of spicules; aa) Microcionid; ab) Node; ac) Palisade; ad) Paratangential skeleton; ae) Parchment; af) Paucispicular fiber; ag) Tertiary fiber; ah) Plumoreticulate skeleton; ai) Plumose skeleton; aj) Primary fiber; ak) Radiate skeleton; al) Reticulate skeleton; am) Spicule; an) Tangential skeleton; ao) Tract; ap) Unispicular fiber. (ดัดแปลงจาก Boury-Esnault & Rützler, 1997)



ແຜ່ນກາພທີ 6 Spicles of Demospongiae: a) Acantho; b) Sanidaster; c) Amphitriaene; d) Calthrop; e) Diaene; f) Anatriaene; g) Dichotriaene; h) Mesotriaene; i) Monaene; j) Orthotriaene; k) Plagiotriaene; l) Protriaene; m) Centrotriaene; n) Exotyl; o) Lophocalthrop; p) Oxeia; q) Style; r) Subtylostyle; s) Strongyle; t) Triod; u) Tyle; v) Tylostyle; w) Tylote; x) Verticillate; y) Amphiaster; z) Anchorate chela; aa) Anchorate chela; ab) Anisochela; ac) Arcuate chela; ad) Anthaster; ae) Birotula; af) Comma; ag) Diod; ah) Oxyaster; ai) Spheraster; aj) Spheroxyaster; ak) Strongylaster; al) Truncaster; am) Onychaete; an) Palmate chela; ao) Sanidaster ap) Sigma; aq) Sigmaspire; ar) Spiraster; as) Sterraster; at) Plesiaster; au) Toxa; av) Raphide.
(ດັດແປລງຈາກ Boury-Esnault & Rützler, 1997)

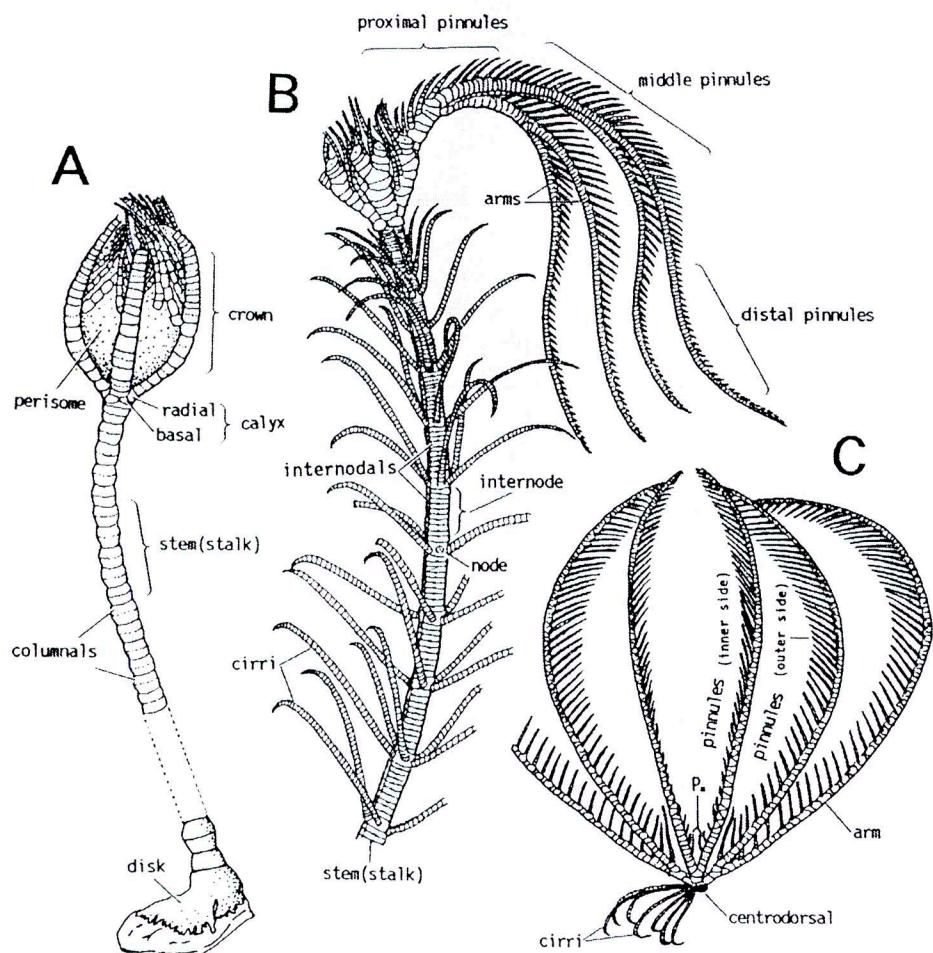
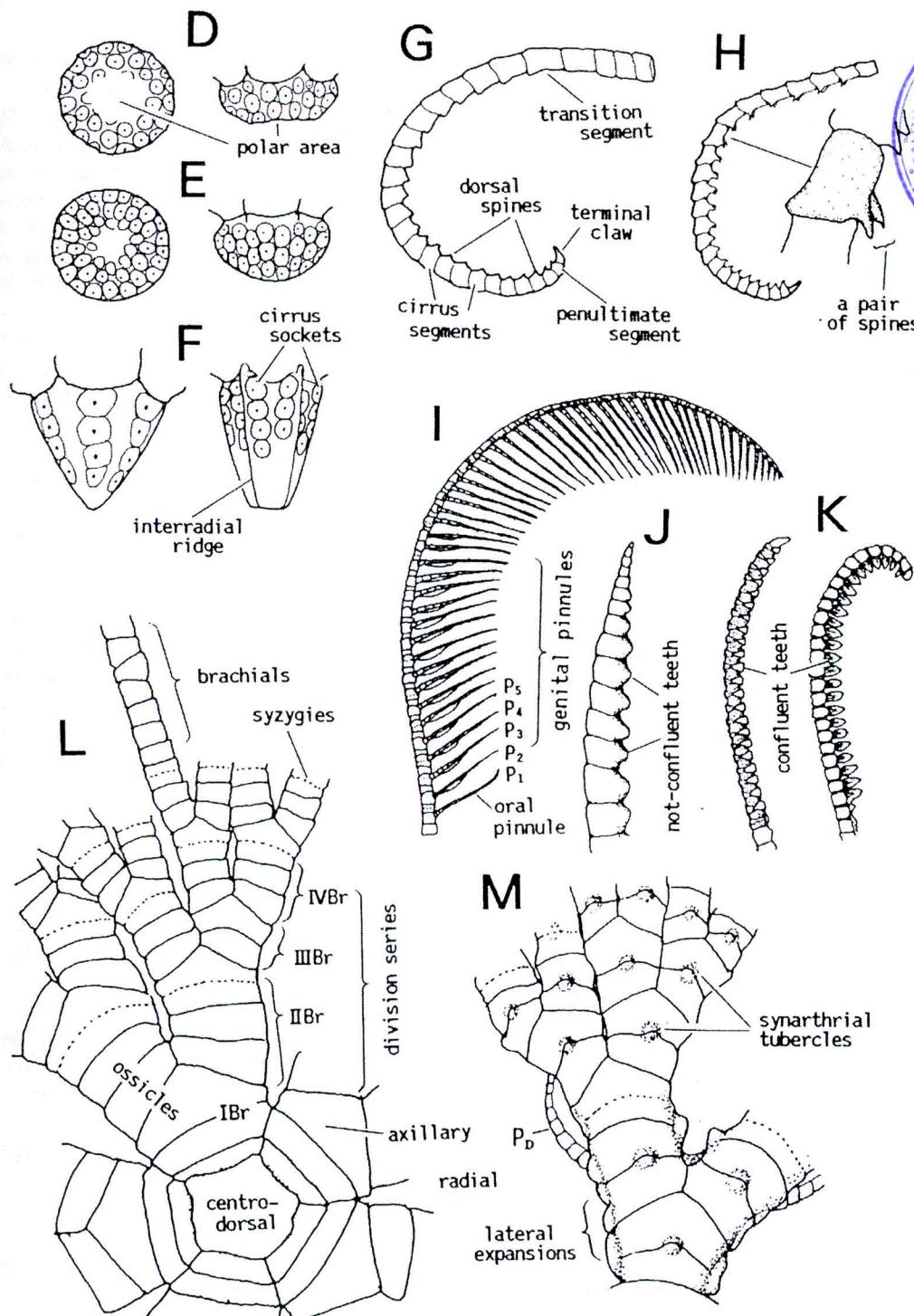
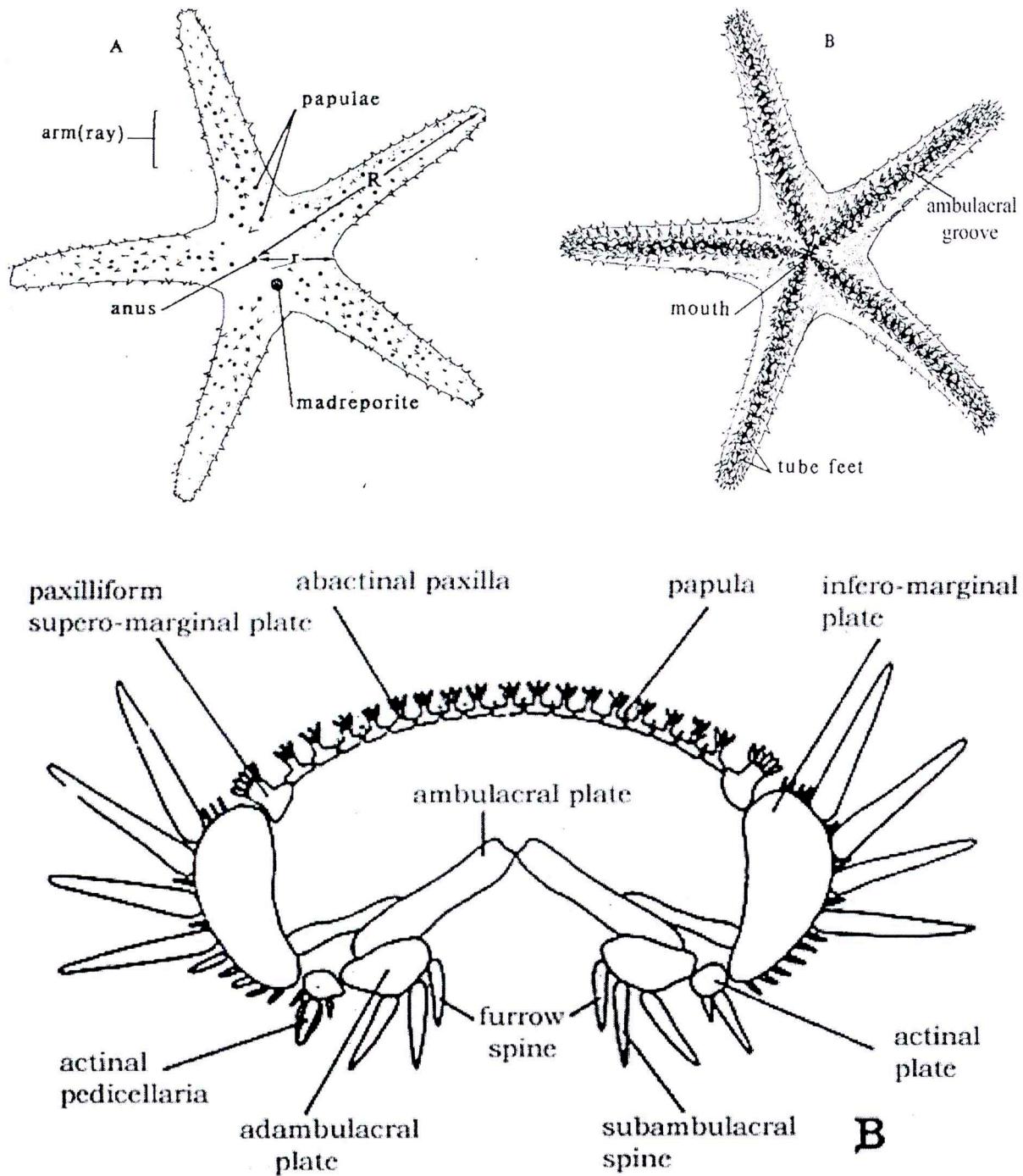


Fig. 2. Structure and terminology used in the text. A: Order Bourgueticrinida (*Phryncrinus nudus*). B: Order Isocrinida (*Metaacrinus rotundus*). C: Order Comatulida (*Antedon adriatica*). D: Discoidal centrodorsals (left; dorsal view, right; lateral view). E: Hemispherical centrodorsals (left; dorsal view, right; lateral view). F: Conical centrodorsals (right; tip truncated). G: Cirrus with simple dorsal spines. H: Cirrus with paired dorsal spines. I: Arm and pinnules. J: A comb with non-confluent teeth of Comasteridae. K: Combs with confluent teeth of Comasteridae. L: Centrodorsal, division series and arm bases. M: Ornamentations on ossicles of division series. (A, C, D, E, F, G, H, I and K; after A.H. Clark, 1915, '21; B; after Carpenter, 1884, J, L and M; drawn by the author)

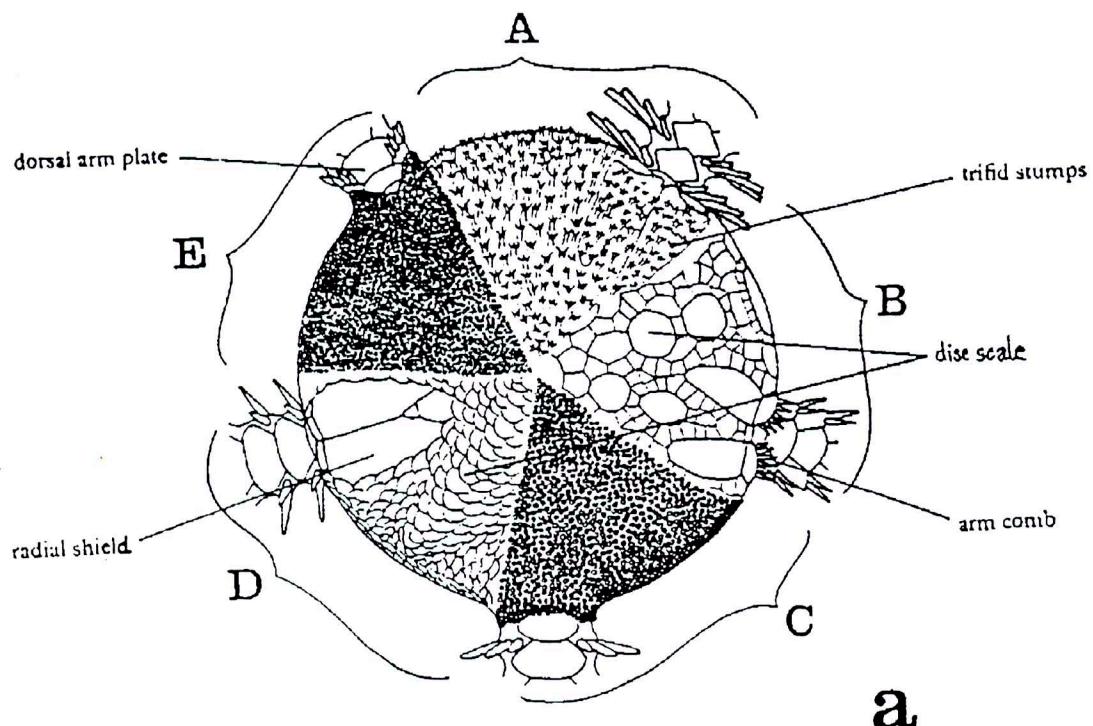
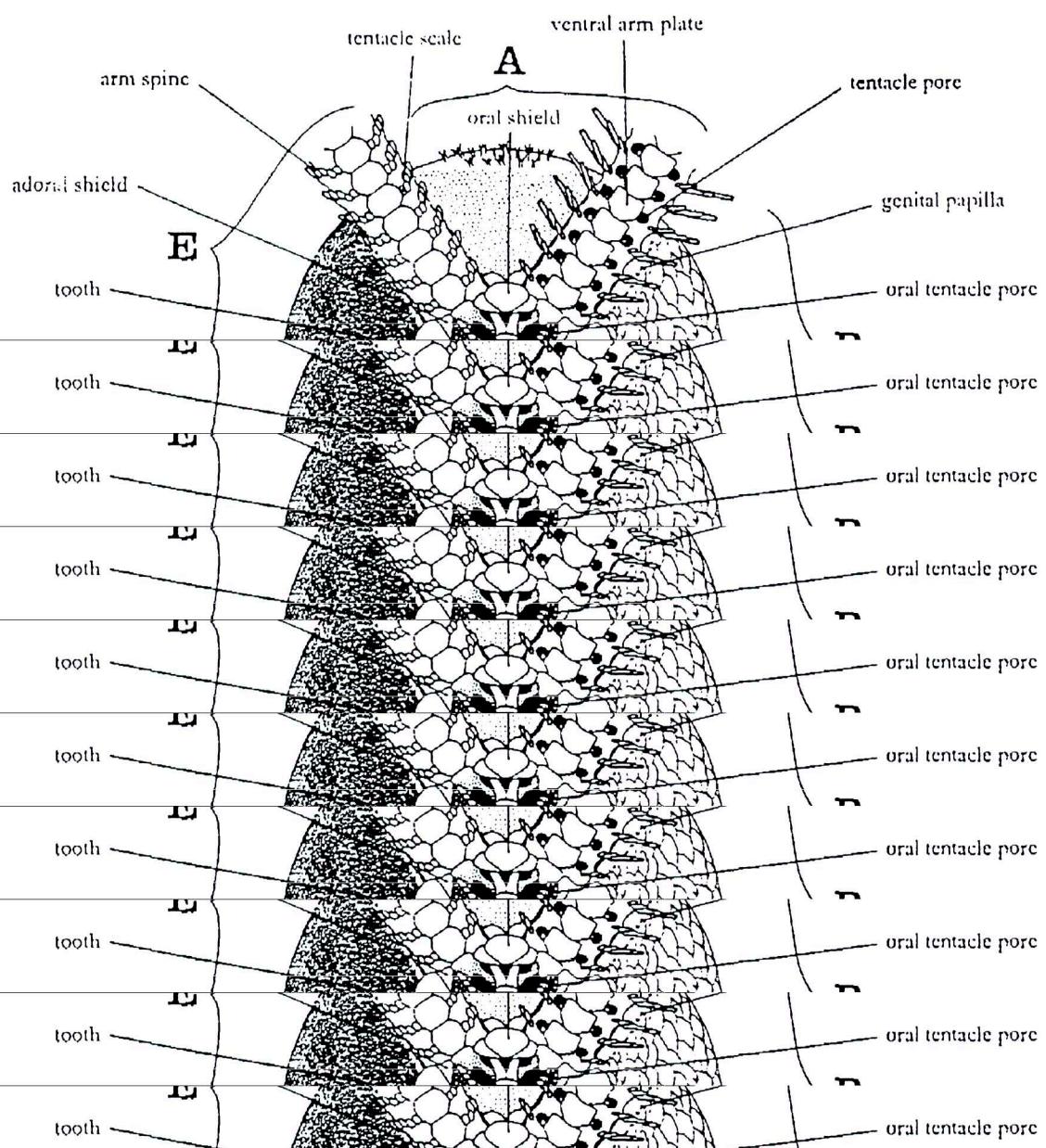
แผ่นภาพที่ 7 รายละเอียดอวัยวะที่ใช้ในการจำแนกชนิดดาวขันนก (Class Crinoidea)
ที่มา: Kogo (1998)

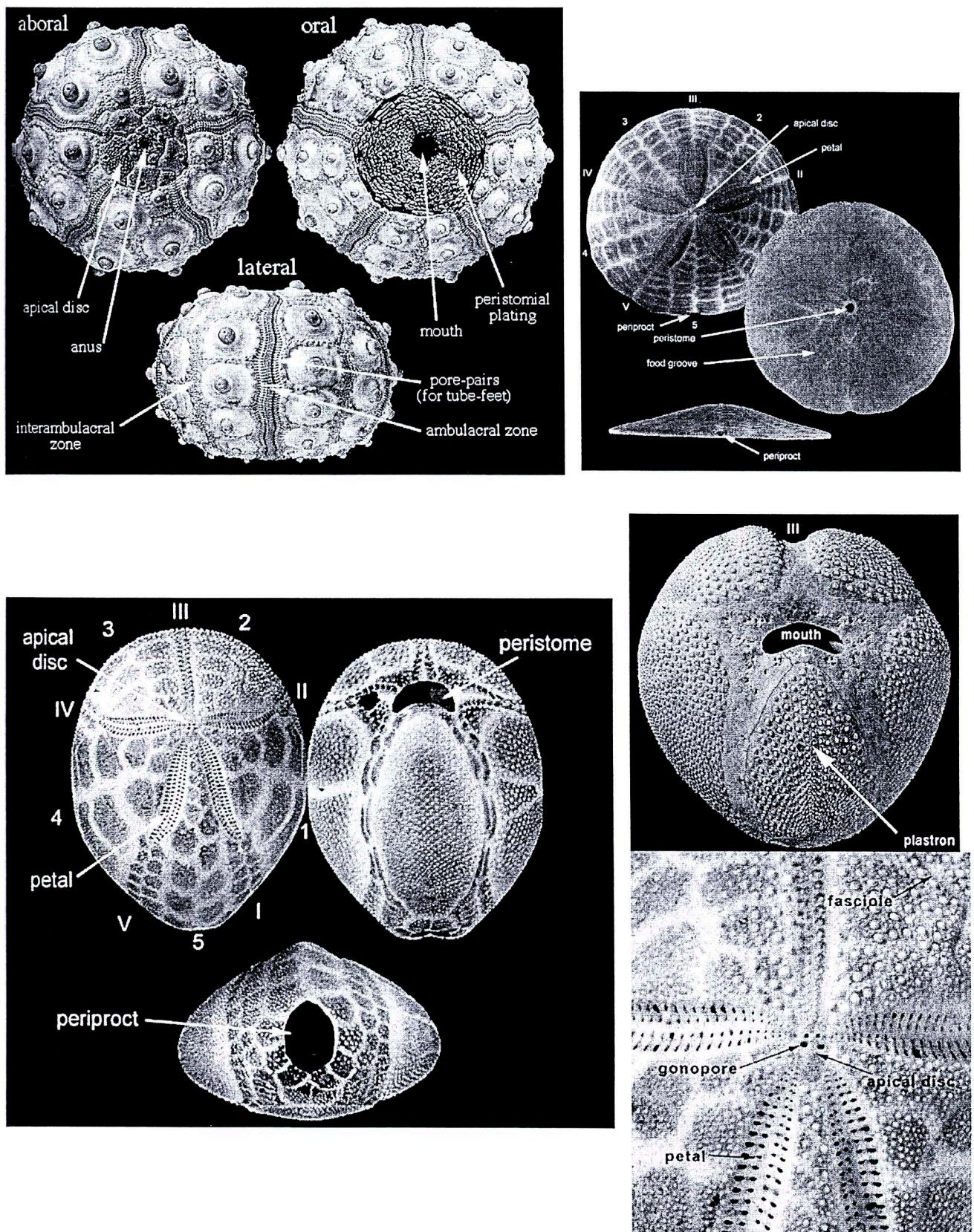


แผ่นภาพที่ 8 รายละเอียดอวัยวะที่ใช้ในการจำแนกชนิดดาว.cnนก (Class Crinoidea) (ต่อ)
ที่มา: Kogo (1998)



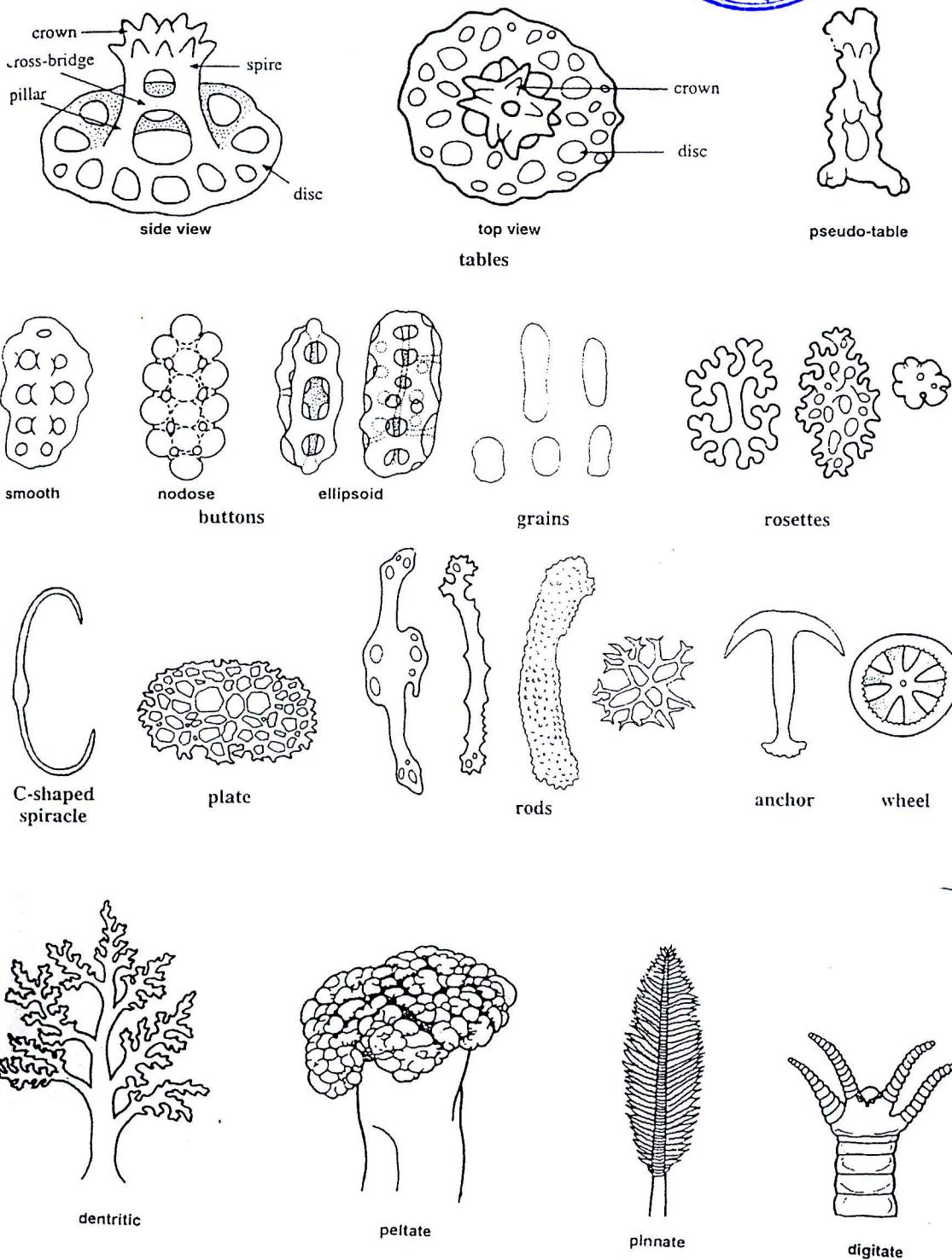
แผ่นภาพที่ 9 แสดงรายละเอียดอวัยวะที่ใช้ในการจำแนกชนิดดาวทะเล (Class Asteroidea)
ที่มา: ภาพบน: Hendler (1995); ภาพล่าง: Clark and Rowe (1971)

**a**



แผ่นภาพที่ 11 แสดงรายละเอียดอวัยวะที่ใช้ในการจำแนกชนิดเม่นทะเล เหรียญทะเลและเม่นหัวใจ (Class Echinoidea)
ที่มา: The Echinoid Directory:

<http://www.nhm.ac.uk/research-curation/research/projects/echinoid-directory>



แผนภาพที่ 12 แสดงรายละเอียดอวัยวะที่ใช้ในการจำแนกชนิดปลิงทะเล (Class Holothuroidea)

ภาพบน: สปีคูลหลักที่ใช้ในการจำแนกชนิดปลิงทะเล; ภาพล่าง: หมวดของปลิงทะเลแบบต่างๆ
ที่มา: Conand (1998)