

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

สถานที่

จากการศึกษาและการสำรวจเอกสาร พบว่า ปลิงทะเลมีลักษณะการดำรงชีวิตในถิ่นที่อยู่ที่แตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาชนิดของปลิงทะเลโดยแบ่งตามลักษณะถิ่นที่อยู่ ได้แก่ แนวปะการัง แหล่งหญ้าทะเล หาดทราย และหาดหิน บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก (ภาพที่ 2) เริ่มตั้งแต่จังหวัดชลบุรี (ภาพที่ 3-5) จังหวัดระยอง (ภาพที่ 6) จังหวัดจันทบุรี (ภาพที่ 6) และจังหวัดตราด (ภาพที่ 7) รวมทั้งหมด 82 สถานี ดังนี้

1. แนวปะการัง พิจารณาจากการกระจายตัวของแนวปะการังให้ครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทยให้มากที่สุด รวม 70 สถานี แบ่งเป็น

1.1 จังหวัดชลบุรี พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 1 : เกาะสี่ซังด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 3), สถานีที่ 2 : เกาะสี่ซังด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 3), สถานีที่ 3 : หินสัมปันธ์ (ภาพที่ 3), สถานีที่ 4 : เกาะร้านดอกไม้ด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 3), สถานีที่ 5 : เกาะค้ำควาด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 3), สถานีที่ 6 : เกาะล้านด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 4), สถานีที่ 7 : เกาะล้านด้านทิศตะวันออกเฉียงใต้ (ภาพที่ 4), สถานีที่ 8 : เกาะล้านด้านทิศใต้ (ภาพที่ 4), สถานีที่ 9 : เกาะล้านด้านทิศตะวันตกเฉียงใต้ (ภาพที่ 4), สถานีที่ 10 : เกาะสากด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 4), สถานีที่ 11 : เกาะครกด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 12 : เกาะครกด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 13 : เกาะไผ่ด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 14 : เกาะไผ่ด้านด้านทิศตะวันตกเฉียงใต้ (ภาพที่ 4), สถานีที่ 15 : เกาะเหลี่ยมด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 16 : เกาะเหลี่ยมน้อยด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 17 : เกาะกลิ้งบาดาลด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 18 : เกาะกลิ้งบาดาลด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 19 : เกาะมารวิชัยด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 20 : เกาะรีนด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 4), สถานีที่ 21 : แหลมแสมสาร (ภาพที่ 5), สถานีที่ 22 : เกาะแสมสารด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 5), สถานีที่ 23 : เกาะแรดด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 5), สถานีที่ 24 : เกาะฉางเกลือด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือ (ภาพที่ 5), สถานีที่ 25 : เกาะขามด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 5), สถานีที่ 26 : เกาะหมูด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 5), สถานีที่ 27 : เกาะอีเลาด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือ (ภาพที่ 5), สถานีที่ 28 : เกาะเตาหม้อด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 5), สถานีที่ 29 : เกาะครามด้านทิศเหนือ (ภาพ

ที่ 5), สถานีที่ 30 : เกาะครามด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 5) และสถานีที่ 31 : เกาะอีร้าด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 5)

1.2 จังหวัดระยอง พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 32 : เกาะเสม็ดด้านทิศตะวันออก/อ่าววงเดือน (ภาพที่ 6), สถานีที่ 33 : เกาะเสม็ดด้านทิศตะวันออก/อ่าวป่าช้า (ภาพที่ 6), สถานีที่ 34 : เกาะเสม็ดด้านทิศตะวันออก/อ่าวลูกโยน (ภาพที่ 6), สถานีที่ 35 : เกาะเสม็ดด้านทิศตะวันตก/อ่าวพร้าว (ภาพที่ 6), สถานีที่ 36 : เกาะกุฎีด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 6), สถานีที่ 37 : เกาะทะเลด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 6), สถานีที่ 38 : หินกลางร่อง (ภาพที่ 6), สถานีที่ 39 : เกาะมันในด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 6), สถานีที่ 40 : เกาะมันกลางด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 6) และสถานีที่ 41 : เกาะมันในด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 6)

1.3 จังหวัดจันทบุรี พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 42 : เกาะนมสาวด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 6)

1.4 จังหวัดตราด พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 43 : เกาะช้างด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 44 : เกาะลิ้มด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 45 : เกาะพร้าวอกด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 46 : เกาะง่ามด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 47 : เกาะกระบุงด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 48 : เกาะหม้อในด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 49 : เกาะหม้อนอกด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 50 : เกาะไม้ซี่ใหญ่ด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 51 : เกาะไม้ซี่เล็กด้านทิศใต้ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 52 : เกาะเหลาในด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 53 : เกาะจานด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 54 : เกาะใบดั่งด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 55 : เกาะหวายด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 56 : เกาะหวายด้านทิศตะวันออกเฉียงใต้ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 57 : เกาะคูล้อมด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 58 : เกาะขามด้านทิศตะวันตก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 59 : เกาะหมากด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 60 : เกาะระยั้งนอกด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 61 : เกาะกระ-เกาะเทียนด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 62 : เกาะยักษ์ด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 63 : เกาะลอม/เกาะผี ด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 64 : เกาะรังด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 65 : เกาะมันนอกด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 66 : เกาะหยวกด้านทิศตะวันออก (ภาพที่ 7), สถานีที่ 67 : เกาะช้างน้อย (ภาพที่ 7), สถานีที่ 68 : เกาะหมากด้านทิศใต้ (ภาพที่ 7), สถานีที่ 69 : เกาะไม้ซี่เล็ก (หมู่เกาะกูด) ด้านทิศใต้ (ภาพที่ 7) และสถานีที่ 70 : เกาะกูดด้านทิศเหนือ (ภาพที่ 7)

2. แหล่งหญ้าทะเล พิจารณาจากชนิดเด่น (dominant species) ของหญ้าทะเล 4 ชนิด รวม 4 สถานี แบ่งเป็น

2.1 *Halodule pinifolia* (Miki) den Hartog (หญ้าผมนาง, กุยช่ายเข็ม) พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 71 : อ่าวมะขามป้อม จังหวัดระยอง (ภาพที่ 6)

2.2 *Enhalus acoroides* (Linnaers f.) Roye (หญ้าชะเงาใบยาว, หญ้าเงา, หญ้าอ) พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 72 : อ่าวธรรมชาติ เกาะบุย จังหวัดตราด (ภาพที่ 7)

2.3 *Cymodocea serrulata* (R. Brown) Ascherson and Magnus (หญ้าชะเงาใบสั้น) พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 73 : แหลมคลองกล้วย เกาะกูด จังหวัดตราด (ภาพที่ 7)

2.4 *Halophila ovalis* (R. Brown) Hooker f. (หญ้าใบมะกรูด, หญ้าทะเลใบกลม) พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 74 : เกาะกระดาดด้านทิศตะวันตกจังหวัดตราด (ภาพที่ 7)

3. หาดทราย พิจารณาจากขนาดของอนุภาค (grain size) ของเม็ดทราย รวม 4 สถานี แบ่งเป็น

3.1 ทรายหยาบ พื้นที่ทำศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 75 : หาดบางเสร่ จังหวัดชลบุรี (ภาพที่ 4)

3.2 ทรายหยาบปนละเอียด พื้นที่ทำศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 76 : หาดบางแสน จังหวัดชลบุรี (ภาพที่ 3) และสถานีที่ 77 : หาดแม่รำพึง จังหวัดระยอง (ภาพที่ 6)

3.3 ทรายละเอียด พื้นที่ทำศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 78 : หาดแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี (ภาพที่ 3)

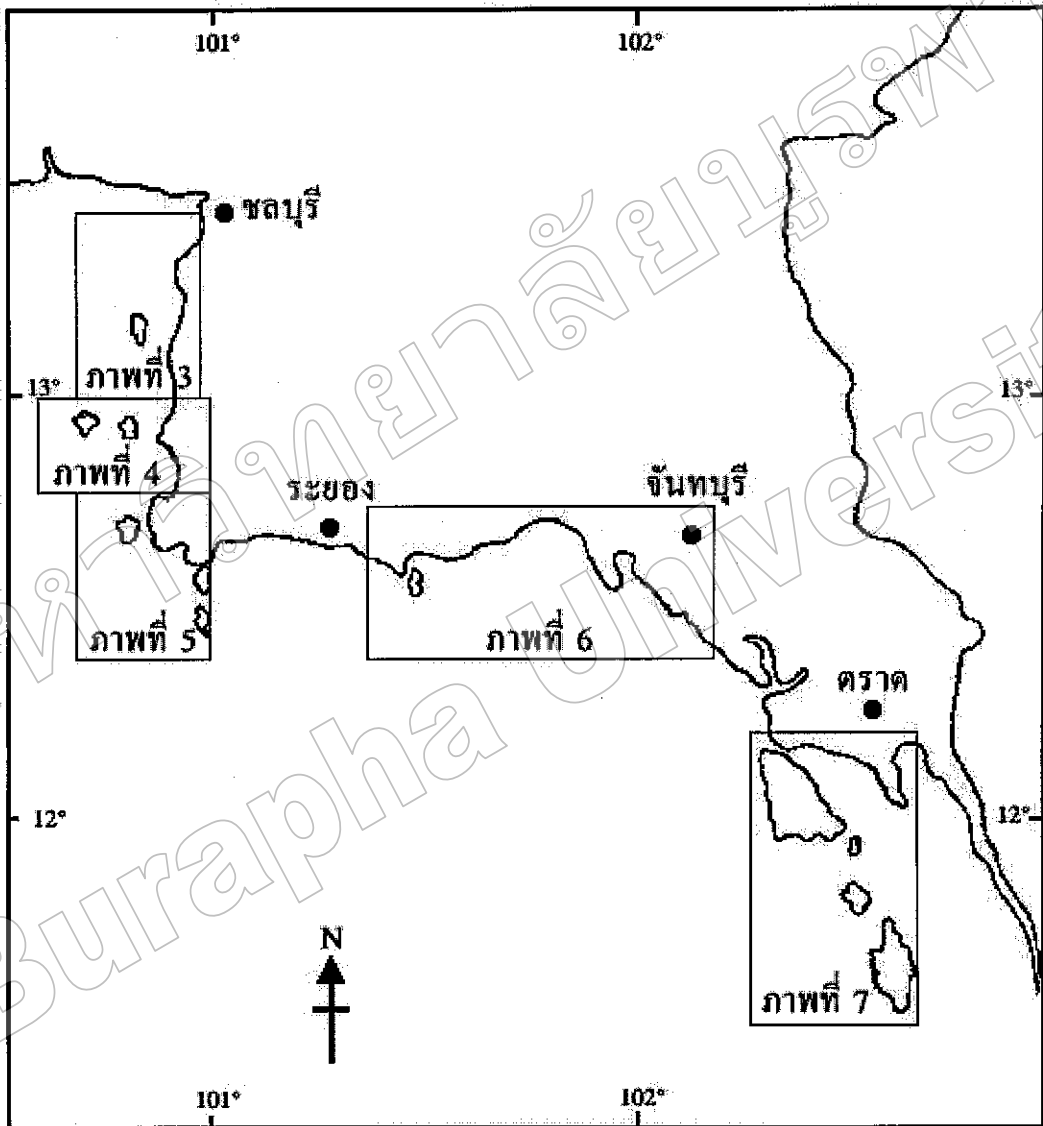
4. หาดหิน พิจารณาจากการกระจายให้ครอบคลุมพื้นที่ รวม 4 สถานี แบ่งเป็น

4.1 จังหวัดชลบุรี พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 79 : แหลมแท่น (ภาพที่ 3)

4.2 จังหวัดระยอง พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 80 : แหลมหญ้า (ภาพที่ 6)

4.3 จังหวัดจันทบุรี พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 81 : แหลมหาดเจ้าหลาว (ภาพที่ 6)

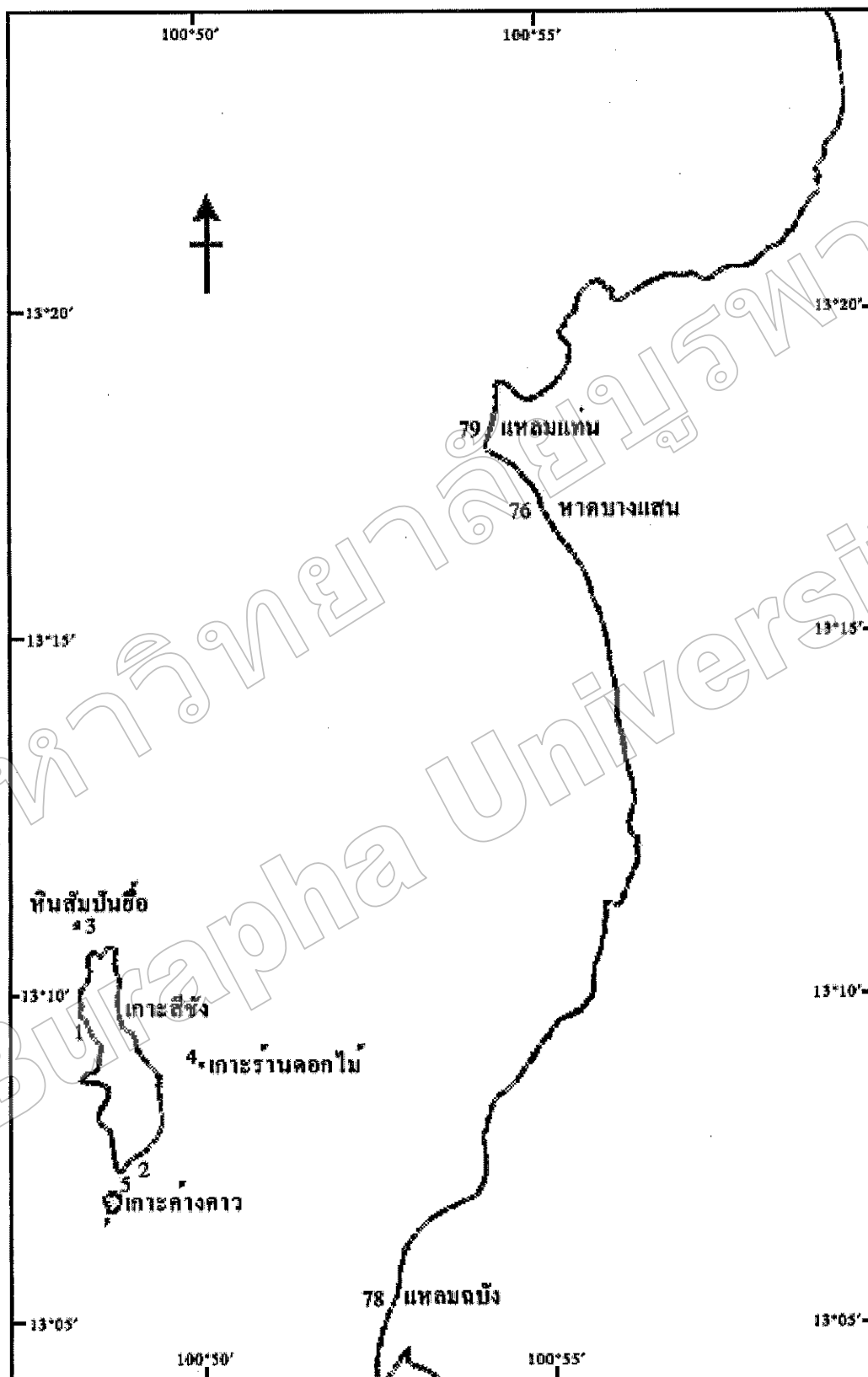
4.4 จังหวัดตราด พื้นที่ศึกษา ได้แก่ สถานีที่ 82 : แหลมศอก/อ่าวซ้อ (ภาพที่ 7)



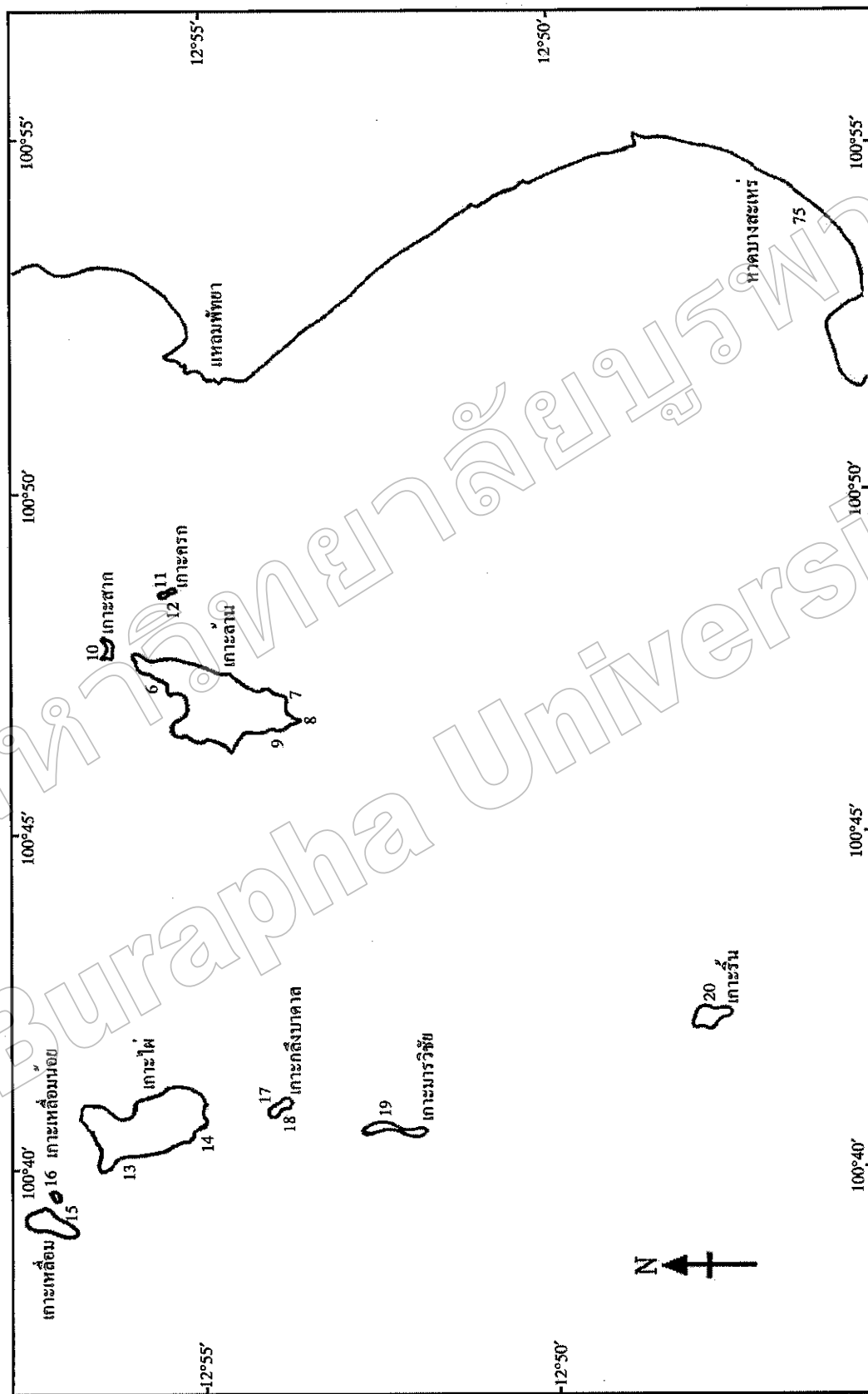
ภาพที่ 2 แสดงแผนที่เก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่งทะเล ภาคตะวันออกของประเทศไทย

161154

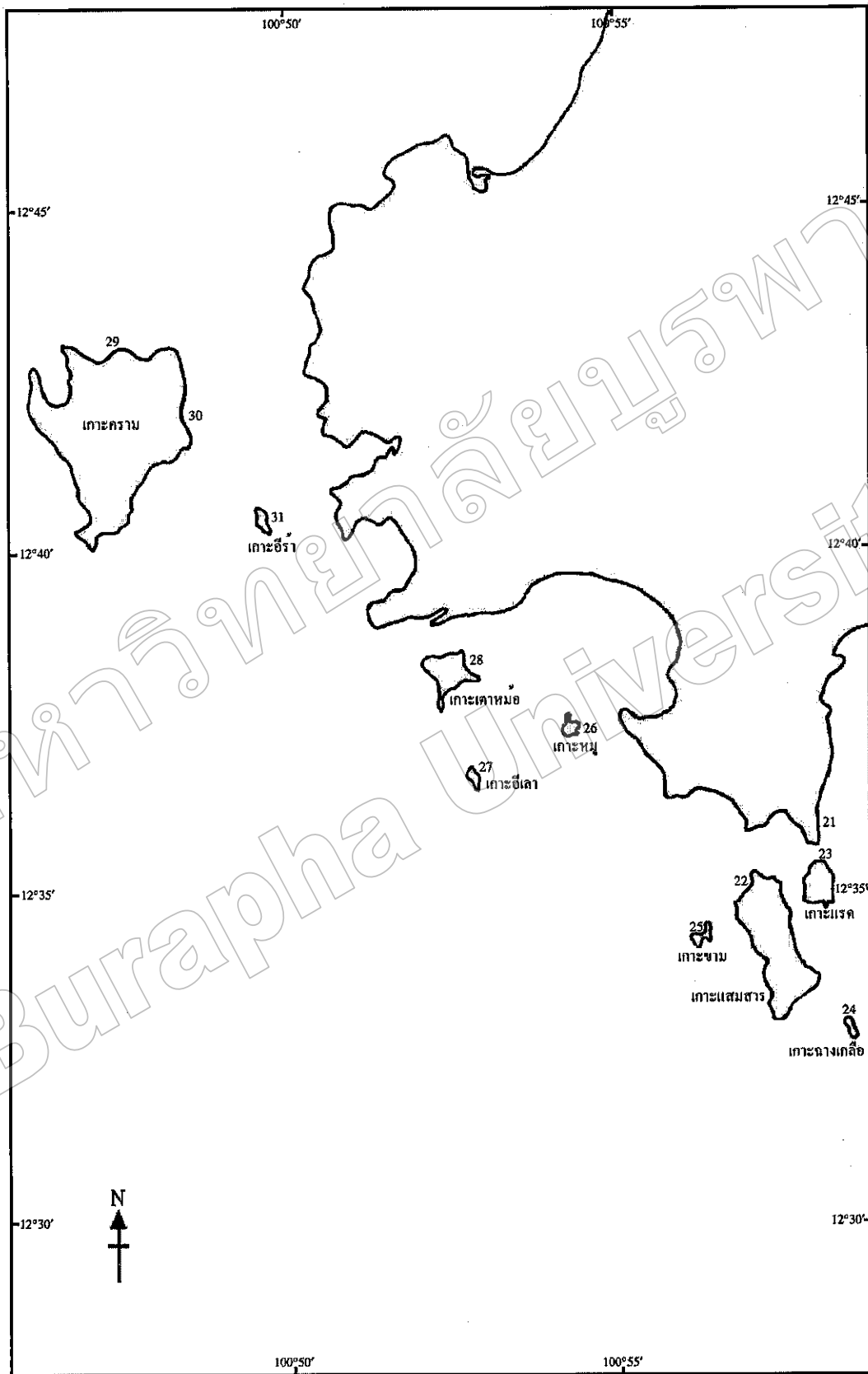
๑
๖๙๓.๙๖
๐๖๔๗๗
๓๐



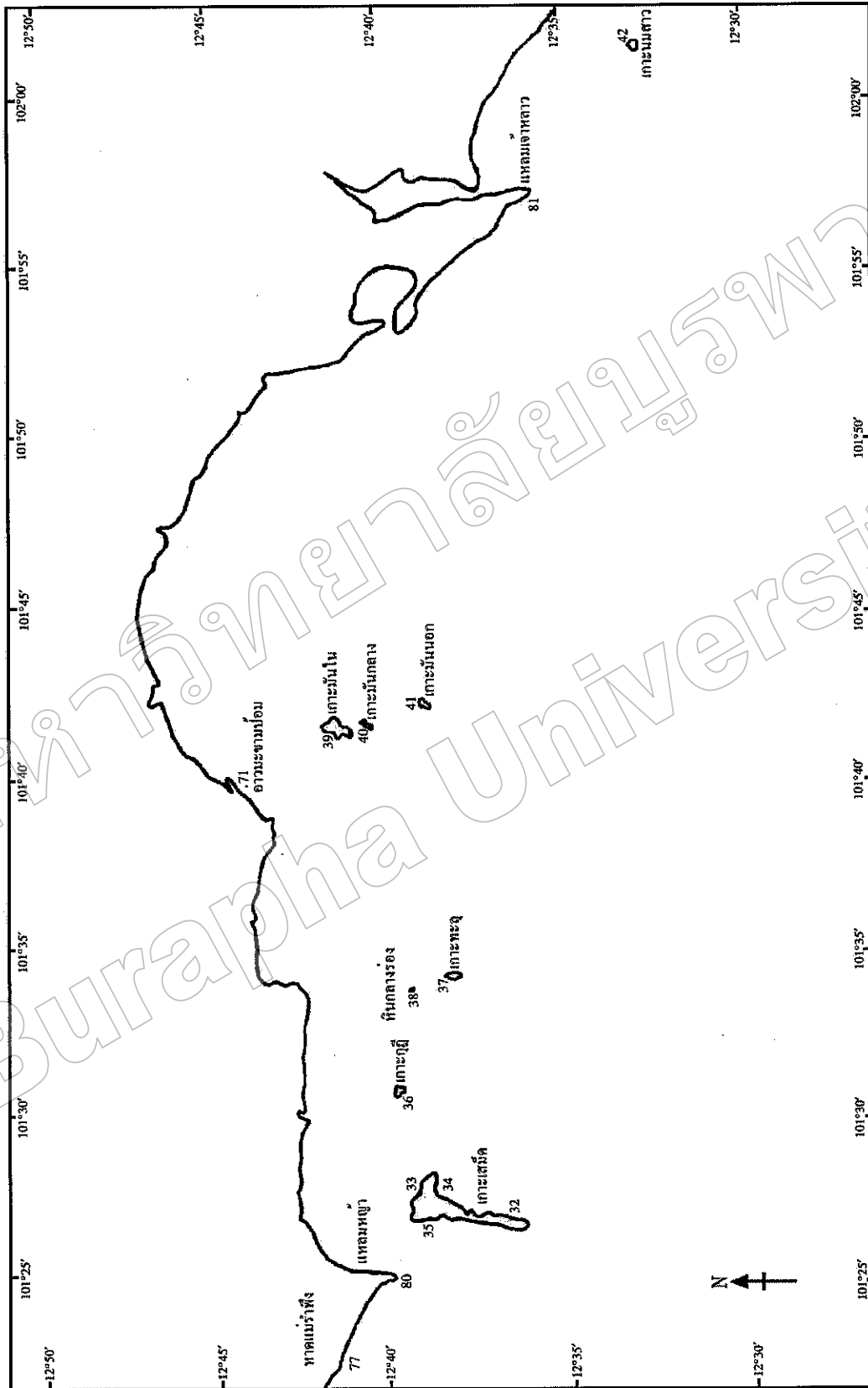
ภาพที่ 3 แสดงสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี



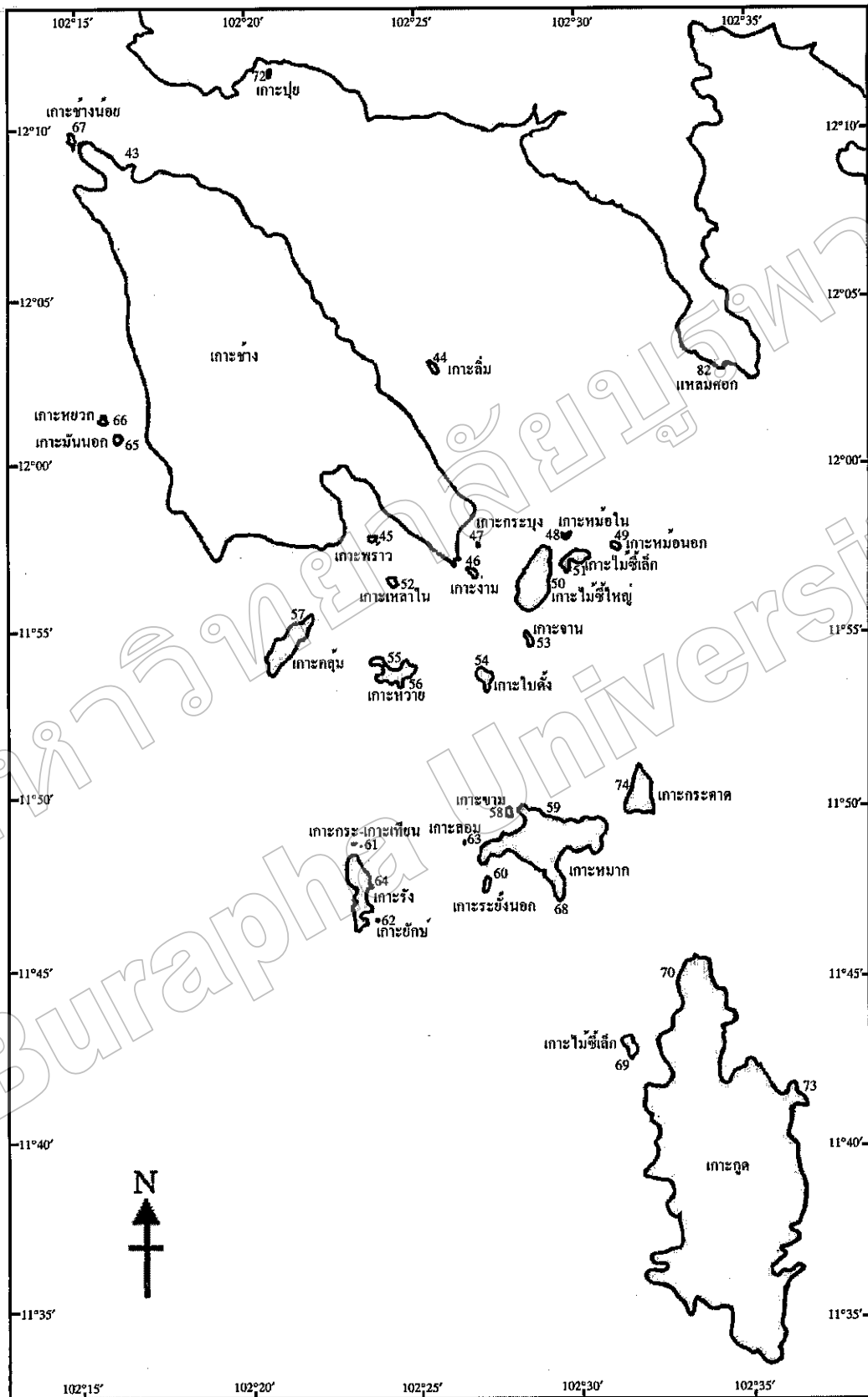
ภาพที่ 4 แสดงสถานที่เก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี



ภาพที่ 5 แสดงสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี



ภาพที่ 6 แสดงสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่ง จังหวัดจันทบุรี



ภาพที่ 7 แสดงสถานีเก็บตัวอย่างบริเวณชายฝั่ง จังหวัดตราด

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ภาชนะในการรวบรวมตัวอย่าง เช่น ขวดหรือถังคอง
2. เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง
 - 2.1 อุปกรณ์ดำน้ำ
 - 2.2 ถุงหีบและถุงตาข่าย
 - 2.3 กล้องถ่ายภาพใต้น้ำ
3. สารเคมีที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่าง
 - 3.1 แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) 10 เปอร์เซ็นต์
 - 3.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$) 10 เปอร์เซ็นต์
 - 3.3 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
 - 3.4 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสปีคูล
 - 4.1 เครื่องมือผ่าตัด
 - 4.2 เจ็มมิตยา
 - 4.3 ถาดอลูมิเนียม
 - 4.4 หลอดทดลอง
 - 4.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์
 - 4.6 กล้องจุลทรรศน์
 - 4.7 กล้องถ่ายภาพสไลด์

วิธีการดำเนินการ

1. การเก็บตัวอย่างและการเก็บรักษาตัวอย่าง

1.1 การเก็บตัวอย่าง

1.1.1 การเดินสุ่มเก็บขณะน้ำลงจากขอบชายฝั่งประมาณ 200 เมตร ร่วมกับการดำผิวน้ำ (SKIN diving) ตามบริเวณหาดทราย หาดหิน และแหล่งหญ้าทะเล การดำน้ำ (SCUBA diving) สุ่มเก็บตัวอย่างบริเวณแนวปะการัง ตั้งแต่ขอบในแนวปะการังตื้นชายฝั่ง จนถึงขอบนอกแนวปะการัง

1.1.2 ทำการจดบันทึกถึงลักษณะถิ่นที่อยู่และความลึกบริเวณที่เก็บตัวอย่าง

1.2 การสลับและการเก็บตัวอย่าง

1.2.1 การสลับตัวอย่าง ใช้เมกนีเซียมซัลเฟต 10 เปอร์เซ็นต์ในน้ำทะเล แช่ตัวอย่าง ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอย่างยึดตัว

1.2.2 การเก็บรักษาตัวอย่าง นำตัวอย่างที่สลับแล้วมาฉีดด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ให้ทั่วลำตัว จากนั้นจึงนำไปดองด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้อย่างถาวร

2. การปฏิบัติการในห้องปฏิบัติการ

2.1 ศึกษาอวัยวะภายนอกและภายใน ศึกษาลักษณะและจำนวนหนวด (ภาพที่ 8), ลักษณะวงแหวนหินปูน (calcareous ring) (ภาพที่ 9), ตำแหน่งของเท้าเทียม (tube feet)

2.2 ศึกษาสปีกุลของปลิงทะเล (ภาพที่ 10) ใช้มีดตัดผนังลำตัว ขนาด 2x3 มิลลิเมตร ใส่หลอดทดลองเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ นำไปต้มให้เนื้อเยื่อสลายด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ ระวังไม่ให้เดือดเพราะจะทำให้สปีกุลแตกหัก เสียหายได้ ทิ้งให้ตกตะกอน รินส่วนที่เป็นสารละลายทิ้งและเทน้ำกลั่นลงไป ล้างตะกอน 2-3 ครั้ง นำตะกอนไปล้างด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 1-2 ครั้ง จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างสปีกุลไว้ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ดูดตะกอนมาตรวจลักษณะของสปีกุลด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกลักษณะและวัดขนาดของสปีกุลเพื่อไปจำแนกชนิด

3. เอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิด ยึดระบบของ คลาร์กและโรว (Clark & Rowe, 1971) ร่วมกับคู่มือการจำแนกของโรว (Rowe, 1969); เฟลล์ (Fell, 1982); แคนนอนและซิลเวอร์ (Cannon & Silver, 1986); กิลลีส์, ลาบูว์และเมนูว์ (Guille, Laboute & Menou, 1986); โรวและเกต (Rowe & Gates, 1995); แมสซิน (Massin, 1996, 1999).

การจัดทำคู่มือการจำแนกชนิดของปลิงทะเล

1. คู่มือในการจำแนกชนิด มีลักษณะเป็น Dichotomous Keys โดยแยกปลิงทะเลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างออกเป็น อันดับ (Order) วงศ์ (Family) สกุล (Genus) ชนิด (Species)

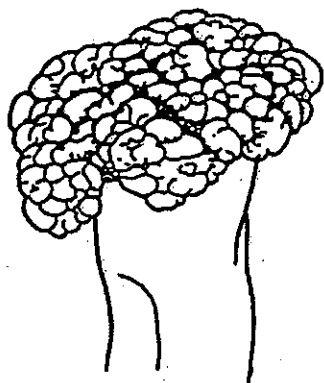
2. การบรรยายลักษณะและรายละเอียดของชนิดปลิงทะเล

2.1 ภาพลักษณะตัวปลิงทะเล ลักษณะแผ่นวงแหวนหินปูน ลักษณะของ สปีกุล และลักษณะสำคัญอย่างอื่นที่ใช้ในการจำแนกชนิด พร้อมคำบรรยายโดยละเอียด

2.2 ลักษณะถิ่นที่อยู่อาศัย (habitat) แหล่งที่พบ (locality) และการแพร่กระจาย (distribution)

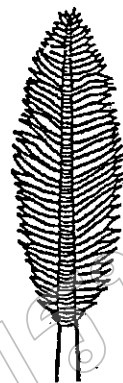
ศึกษาตัวอย่างที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์และห้องเก็บตัวอย่างของสถาบันต่างๆ ดังนี้

1. พิพิธภัณฑ์อ้างอิง สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131
 2. พิพิธภัณฑ์คณะประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
 3. กลุ่มวิจัยอนุกรมวิธานสัตว์น้ำไม่มีกระดูกสันหลัง สถาบันพิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำ
กรมประมง ภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
 4. ห้องปฏิบัติการสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ภาควิชาวริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131
 5. ห้องปฏิบัติการสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะ
วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
- โดยตัวอย่างที่พบในพิพิธภัณฑ์และห้องเก็บตัวอย่างนี้ มีวิธีการศึกษาเช่นเดียวกับตัวอย่าง
ที่ได้จากการสำรวจในภาคสนาม



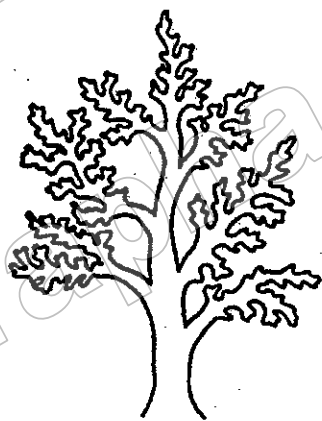
A : หนวดแบบจาน (Peltate)

อันดับ Aspidochirota



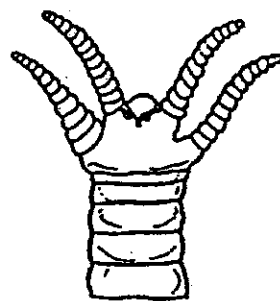
B : หนวดแบบขนนก (Pinnate)

อันดับ Apodida



C : หนวดแบบพุ่มไม้ (dendritic)

อันดับ Dendrochirota



D : หนวดแบบนี้มือ (digitate)

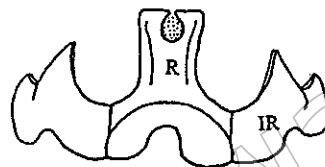
อันดับ Molpadida

ภาพที่ 8 แสดงลักษณะหนวดของปลิงทะเล (Conand, 1998)



A : วงศ์ Holothuriidae

สกุล *Holothuria*



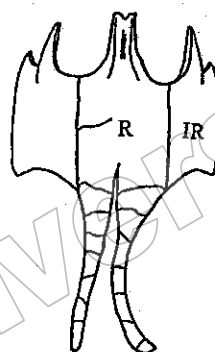
B : วงศ์ Cucumariidae

สกุล *Pentacta*



C : วงศ์ Phylloporidae

สกุล *Thyone*



D : วงศ์ Phylloporidae

สกุล *Havelockia*



E : วงศ์ Stichopodidae

สกุล *Stichopus*

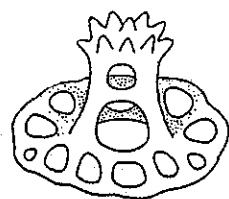


F : วงศ์ Synaptidae

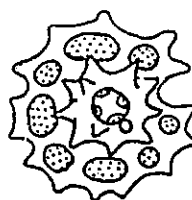
สกุล *Synaptula*

ภาพที่ 9 แสดงลักษณะของแผ่นวงแหวนหินปูน (Calcareous ring) แบบต่างๆ

(Clark & Rowe, 1971; Massin, 1999)



แบบไต้ะ



ฐานไต้ะของสปีคูลแบบไต้ะ



แท่งแตกแขนง



แท่งผิวเป็นหนาม



แท่งตัวซี



แท่งตัวเอส



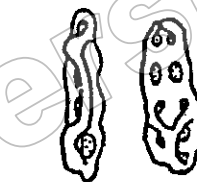
แผ่นกระดุมขอบเรียบ



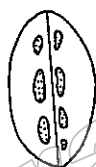
แผ่นกระดุมปุ่มปม



แผ่นกระดุมลดรูป



แผ่นกระดุมบิดไปมา



แผ่นกระดุมมีเส้นแบ่งกึ่งกลาง



แผ่นกระดุมที่ผิดปกติ



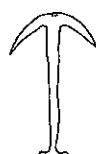
แท่งแตกแขนงสองมิติ



แบบตะกร้า



ทรงกลมรูปรุนสองมิติ



แบบสมอ



แผ่นสมอ



แผ่นรูปรุน



แบบกลมขอบหยัก

ภาพที่ 10 แสดงสปีคูลบางชนิด ที่ใช้ในการจำแนกชนิด

(Clark & Rowe, 1971; Rowe, 1969; Massin, 1999)