

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ชื่อเรื่อง ระบบการสืบพันธุ์ของปะการังโขดบริเวณเกาะแตนจังหวัดสุราษฎร์ธานี

Reproduction system of *Porites lobata* on Tan Island Suratthani



T104561



ส.พ.  
ศ. 1618

เลขหมู่..... 2750  
เลขทะเบียน..... 104561  
วัน,เดือน,ปี..... - 5 พ.ย. 2552

b. 1215920x  
i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ  
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ระบบการสืบพันธุ์ของปะการังโขดบริเวณเกาะแตนจังหวัดสุราษฎร์ธานี  
Reproduction system of *Porites lobata* on Tan Island Suratthani

ชื่อนักศึกษา นาย ศรัณย์ มะหะมาน

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร.มณฑล แก่นมณี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ดร.มณฑล แก่นมณี)

ภาควิชารับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ ๒๐ เดือน พ. ๑ พ.ศ. ๒๕๕๗

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

### เรื่อง

## ระบบการสืบพันธุ์ของปะการังโขดบริเวณเกาะแตนจังหวัดสุราษฎร์ธานี Reproduction system of *Porites lobata* on Tan Island Suratthani

การศึกษาการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของปะการังชนิด *Porites lobata* จากบริเวณเกาะแตน จังหวัดสุราษฎร์ธานี ในช่วงเดือนพฤษภาคม 2550 และ มกราคม 2551 โดยมุ่งเน้นที่การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และความสมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์ของปะการัง เก็บตัวอย่างปะการังจากโคโลนีที่ได้ทำการคัดเลือกและติดเครื่องหมายไว้ และการวิเคราะห์ทางเนื้อเยื่อตามวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการโดยกระบวนการทางไมโครเทคนิคจากผลการศึกษาพบว่าปะการัง *Porites lobata* เป็นกะเทยโดยจะมีการสร้างไข่ และ Sperm ใน polyp เดียวกัน เซลล์ไข่ที่เจริญเต็มที่ มีขนาดประมาณ 344 ไมโครเมตร ส่วนสเปิร์มจะมีขนาด 303 ไมโครเมตร และระยะของการเจริญเติบโตของระบบสืบพันธุ์ในเดือนพฤษภาคม 2550 จะอยู่ในระยะที่ 3 และ 4 ส่วนในเดือนมกราคม 2551 จะอยู่ในระยะที่ 2 และ 3 ปะการัง *Porites lobata* จากบริเวณเกาะแตน มีช่วงระยะเวลาการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ไม่พร้อมกันจึงทำให้มีความแตกต่างกันของช่วงระยะเวลาในการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของทั้งสองบริเวณ ในช่วงเดือน พฤษภาคม-มกราคม อาจเป็นช่วงระยะเวลาที่ปะการังในบริเวณอ่าวไทยมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์มาก แต่การพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ของทั้งสองบริเวณจะมีเพียงรอบเดียวในหนึ่งปีหรืออาจจะมีหลายครั้งต่อปีก็ได้

ปะการัง *Porites lobata* บริเวณเกาะแตน จะมีขนาดของ oocyte ใกล้เคียงกัน ระบบสืบพันธุ์ปะการัง *Porites lobata* มีความแปรปรวนในแต่ละโคโลนีและบริเวณที่ศึกษา การสร้างเซลล์สืบพันธุ์มีความแตกต่างกัน แสดงถึงการแบ่งสรรพลังงานเพื่อการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตในสัดส่วนที่ต่างกััน ดังนั้นการศึกษาเรื่องระบบสืบพันธุ์ของปะการังจึงจำเป็นอย่างมากเพื่อที่จะได้มีการจัดการทรัพยากรแหล่งปะการังที่ถูกต้องเพื่อการฟื้นฟูแนวปะการังที่เสื่อมโทรมที่มีความสำคัญมากทั้งในปัจจุบันและอนาคต ข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาของปะการังที่ถูกต้องและเพียงพอโดยเฉพาะอย่างยิ่งความรู้เกี่ยวกับชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปะการังมีความสำคัญมากต่อกระบวนการตัดสินใจในการวางแผนและการกำหนดมาตรการต่าง ๆ เพื่อการอนุรักษ์และจัดการทรัพยากรแหล่งปะการังทั้งนี้เพื่อให้มีการใช้ทรัพยากรแหล่งปะการังอย่างยั่งยืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนิยม

ในการจัดทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร. มณฑล แก่นมณี ซึ่งเป็นที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษ ที่ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษาในการแก้ปัญหาและข้อบกพร่องต่างๆ จนกระทั่งปัญหาพิเศษเล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คุณนุปผา จงพัฒน์ และ คุณ นภพล เผ่าพันธ์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่คอยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์เครื่องมือ พร้อมทั้งช่วยเหลือในด้านการใช้ห้องในการปฏิบัติการทดลองจนกระทั่งการทำปัญหาพิเศษเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ คุณ สุรียา เตียมสำอางค์ และ เพื่อนร่วมโปรเจกต์ทุกคนที่ร่วมแรง ร่วมใจและให้ความช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์และลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนเพื่อนๆในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและเอื้อเฟื้อข้อมูลตลอดจนกำลังใจจนกระทั่งการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านเป็นอย่างสูงที่อบรมสั่งสอนและให้วิชาความรู้เป็นอย่างดี  
ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่สละทั้งกำลังกาย กำลังใจและกำลังทรัพย์ส่งเสียสนับสนุนข้าพเจ้าจนกระทั่งสำเร็จการศึกษา

สุดท้ายขอขอบพระคุณพระเจ้าของผมที่ให้ผมได้รู้หลายๆสิ่งทีพระองค์สร้างขึ้นมา

นายศรัณย์ มะหะมาน  
พฤษภาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	1
สารบัญตาราง	ii
สารบัญภาพ	iii
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลองและวิจารณ์	18
สรุป	21
เอกสารอ้างอิง	22



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงจำนวนของปะการังที่เก็บมาทั้งหมด	16
2	ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย	16
3	ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้	17
4	ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้	27
5	ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย	27



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปะการังโขด ( <i>Porites lobata</i> )	10
2	โพลิปปะการัง	12
3	แสดงวงจรการสืบพันธุ์ของปะการัง	14
4	แสดงOocyteของปะการัง <i>Porites lobata</i> ในระยะที่4ที่พบที่Hawaii	17
5	Oocyteของปะการัง <i>Porites lobata</i> ในระยะที่3ที่พบที่Hawaii	18
6	Oocyteของปะการัง <i>Porites lobata</i> ในระยะที่3ที่พบที่Hawaii	18
7	Oocyteของปะการัง <i>Porites lobata</i> ในระยะที่2ที่พบที่Hawaii	19
8	Spermatocyteของปะการัง <i>Porites lobata</i> ในระยะที่3ที่พบที่Hawaii	19
9	ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์ที่พบในเดือนพฤษภาคม	26
10	ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์ที่พบในเดือนมกราคม	27
11	เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่พบในเดือนพฤษภาคม2550	28
12	เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่พบในเดือนพฤษภาคม2550	28
13	เซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่พบในเดือนมกราคม2551	29
14	เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่พบในเดือนมกราคม2551	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนำ

ปะการังแข็งประเภทปะการังไซด (*Porites lobata*) มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (external fertilization) ทำให้มีวงจรชีวิตที่อาศัยอยู่กับพื้นท้องทะเล (benthic) และช่วงชีวิตที่เป็นตัวอ่อนอยู่ในมวลน้ำ (Planktonic) ช่วงชีวิตที่เป็นตัวอ่อนอยู่ในมวลน้ำจึงเป็นโอกาสเดียวที่ปะการังจะเลือกหาตำแหน่งที่อยู่ที่เหมาะสมในการดำรงชีวิตและยังหมายถึงการเพิ่มจำนวนประชากรเข้าสู่ระบบนิเวศอีกด้วย ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับระบบการสืบพันธุ์ของปะการังจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อเป็นแนวทางในการจัดการทรัพยากรแหล่งปะการังและฟื้นฟูแนวปะการังที่เสื่อมโทรมจึงมีความสำคัญมากทั้งในปัจจุบันและอนาคต ข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาที่ถูกต้องและพอเพียงโดยเฉพาะอย่างยิ่งชีววิทยาระบบการสืบพันธุ์ของปะการังจึงมีความสำคัญมากต่อกระบวนการตัดสินใจในการวางแผนและกำหนดมาตรการต่างๆ เพื่อการอนุรักษ์และจัดการทรัพยากรแหล่งปะการัง ทั้งนี้ เพื่อให้มีการใช้ทรัพยากรแหล่งปะการังได้อย่างยั่งยืนต่อไป

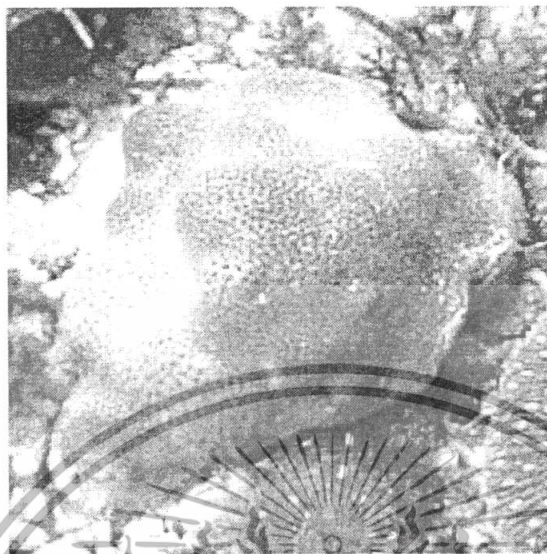
### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาระยะของระบบการสืบพันธุ์ของปะการังไซด (*Porites lobata*) ที่มีอยู่บริเวณเกาะแตน จังหวัดสุราษฎร์ธานี

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ประโยชน์ในการวางแผนและการจัดการทรัพยากรปะการังต่อไปในอนาคต

## ตรวจเอกสาร



ภาพที่1 ปะการังโขด (*Porites lobaia*)

ที่มา : <http://library.thinkquest.org/J002237/corals/lobe.jpg>

### ชีววิทยาของปะการัง

Coral (ปะการัง) คือสัตว์ชนิดหนึ่งในไฟลัมไนดราเรีย (Cnidaria) อยู่ในกลุ่ม Zoantharia ซึ่งเป็นพวกปะการังแข็งที่แท้จริง (Scleractinian coral) รวมถึงปะการังสีดำ (Black coral) ปะการังประกอบด้วยโพลิป ที่สร้างขึ้นมา ช่องกลางระหว่างตัวมีผนังกันเป็น 6 หรือที่โคนของ 6 มีหนวดรอบปากปะการังที่สร้างแนวปะการัง (Hermatypic coral) ทุกชนิดมีสาหร่าย (algae) อยู่ร่วมด้วยคือ Zooxanthellae ในแนวคิวโกลของเซลล์ไนแกสโตรเดิร์ม เป็นระยะพักตัวชนิดที่พบมากที่สุดที่อยู่ร่วมกับปะการังคือ *Symbiodinium microadriaticum* ซึ่งพบในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นด้วย (Veron, 2000) ปะการังเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจัดอยู่ใน Phylum Cnidaria, Class Anthozoa, Subclass Zoantharia, Order Scleractinia ปะการังโดยมากจะอยู่ร่วมกับสาหร่าย Zooxanthellae สามารถสร้างโครงสร้างหินปูนซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่ใช้ในการจำแนกชนิดของปะการัง และอยู่รวมกันเป็นโคโลนีแต่ในบางชนิดอาจอยู่เดี่ยวๆ ปะการังสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศขึ้นอยู่กับ การปรับตัวต่อสภาพแวดล้อม (Ryland, 1985) ตัวของปะการังซึ่งเรียกว่า โพลิปอาศัยอยู่ในโครงสร้างหินปูนและมักจะมีถ้วยเล็กๆ โพลิปของปะการังแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เป็นผลให้รูปร่างของโครงสร้างหินปูน ซึ่งปะการังสร้างขึ้นแตกต่างกันไปด้วย ปะการังประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน ได้แก่ โพลิป (Polyp) และโครงสร้างหินปูน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. โพลิป

โพลิปมักมีรูปร่างของลำตัวเป็นทรงกระบอก ตรงปลายสุดเป็นหนวด (Tentacle) เรียงอยู่รอบปาก ส่วนประกอบที่สำคัญของโพลิปแบ่งได้เป็น2ส่วนคือ Oral disc และ Column

### 2. Oral disc

เป็นส่วนบน ประกอบด้วยปากซึ่งเป็นช่องเปิดเข้าไปในช่องว่างภายในลำตัวรอบปากเป็นแผ่นแบบที่เรียกว่า peristome ซึ่งตอนบนประกอบด้วยหนวดเรียงกันเป็นวงแต่ละวงมี6เส้น หรือเป็นทิวคูนของ6ลักษณะของหนวดโดยปกติเป็นเส้นยาวตรงปลายพองเป็นตุ่มและมีnematocyst ในcnidocytecell

### 3. Column

เป็นส่วนที่มีรูปร่างคล้ายทรงกระบอก ภายในประกอบด้วย stomodaeum และ mesenteries

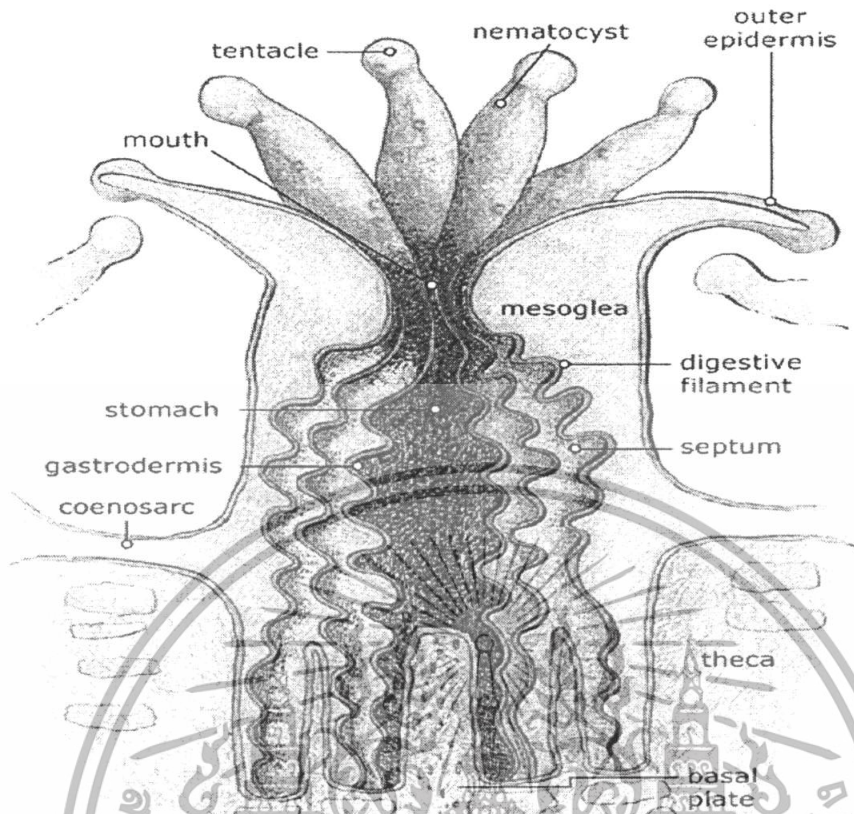
### 4. Stomodaeum

มีลักษณะเป็นหลอดขนาดสั้น ทำหน้าที่คล้าย Esophagus คือเป็นทางติดต่อระหว่างปากและ gastrovascular cavity

### 5. Mesenteries

เป็นแผ่นเนื้อเยื่อแบนๆที่ตั้งเรียงกันเป็นฉากในแนวรัศมีรอบgastrovascular cavity ด้านบนของ Mesenteries ติดอยู่กับส่วนล่างของ oral disc อีกด้านหนึ่งติดกับผนังส่วนในของ Column ด้านล่างไม่ติดกับส่วนใดเลย ด้านในของ Mesenteries ที่อยู่ข้างใต้ Stomodaeum ลงมาประกอบด้วย Mesenteries filament ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นแบนยาวคล้ายริบบิ้นที่ขดไปมา ทำหน้าที่ช่วยในการย่อยอาหารและขับถ่ายของเสีย(Phongsuwan, 1986)ส่วนประกอบอื่นของ โพลิป ได้แก่ Edge zone, coenosarc และ basal disc Edge zone เป็นส่วนของ colum ของโพลิปที่ยื่นขยายออกไปในแนวนอนนอกผนังของโครงสร้างหินปูนและพบในปะการังชนิดที่อยู่ตัวคนเดียว Coenosarc พบในปะการังที่อยู่เป็นกลุ่ม เกิดจาก edge zone ของโพลิปที่อยู่ใกล้กันมาเชื่อม Basal disc เป็นส่วนที่อยู่ข้างล่าง column ทำหน้าที่ในการยึดเกาะ substrate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 โพลิปปะการัง

ที่มา : <http://library.thinkquest.org/J02058/corals/polyp.jpg>

การสืบพันธุ์ของปะการัง การสืบพันธุ์ในปะการังมี 2 วิธี ได้แก่ แบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เป็นการสืบพันธุ์ที่เกิดจากการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ออกมาผสมกัน การผสมเกิดขึ้นภายในตัวของปะการัง โพลิป ของปะการังอาจเป็น hermaphrodite หรือ dioecious ก็ได้ โดยมี gonad อยู่ใน Mesenteries larva ที่เกิดขึ้นอาศัยอยู่ใน gastrovascular ของตัวเดิม และถูกดันออกมาทางปากครวละ 1 ตัว หรือหลายตัว Planula larva ที่ออกมา มีรูปร่างกลมหรือเป็นทรงกระบอกยาว มีความยาวแตกต่างกันในระหว่าง 1-3 มม. รอบๆ ลำตัวมีขนสั้นๆ (Cilia) จึงสามารถว่ายน้ำได้ ระยะเวลาที่ planula larva ของแต่ละชนิดว่ายน้ำมีระยะตั้งแต่มัไม่กี่วันจนถึงหลายสัปดาห์ เมื่อเจอสิ่งแวดล้อมและ substrate ที่เหมาะสม มักจะใช้ basal disc ที่อยู่ด้านล่างของ column และมีลักษณะเป็นแผ่นแบนยึดเกาะกับ substrate ไว้ ในระยะนี้ปะการัง จะเกิดการเปลี่ยนแปลง (Differentiated) ต่างๆ โดยมี Mesenteries และ Septa เกิดขึ้น การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เป็นการสืบพันธุ์ที่เกิดโพลิปใหม่โดยไม่ได้อาศัยเซลล์สืบพันธุ์ พบ 2 แบบ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

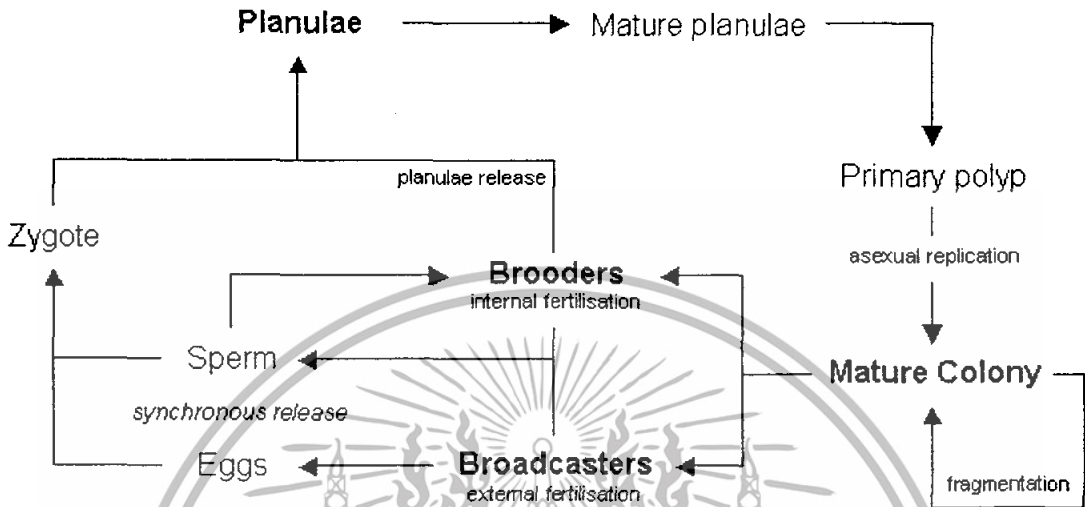
1. Intratentacular budding เป็นการเกิด โพลิปใหม่ที่เกิดขึ้นจากการแยกออกของโพลิปเดิม โดย mesenteries บางอันยื่นออกมารวมกันหรือการแบ่งตัวที่บริเวณ oral disc ในวงของหมวด
2. Extratentacular budding เป็นการแยกตัวใหม่ที่เกิดขึ้นภายนอกวงของหมวดของตัวเดิม โดยเกิดจาก coenosarc หรือ edge zone

### การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของปะการัง

1. Hermaphrodite broadcaster มีลักษณะของทั้งสองเพศภายในโพลิปเดียวกัน ไข่และน้ำเชื้อจะถูกรวมอยู่ในก้อนเล็ก ๆ เรียกว่า "bundle" เมื่อเข้าสู่ระยะที่สมบูรณ์จะถูกปล่อยออกสู่ภายนอก bundle แต่ละก้อนจะแตกออก ซึ่งไข่และน้ำเชื้อจะผสมกันในมวลน้ำ
2. Hermaphrodite brooder มีลักษณะที่มีสองเพศภายในโพลิปเดียวกัน ไข่และน้ำเชื้อมีการผสมกันภายในโพลิป ตัวอ่อนจะได้รับการพัฒนาอยู่ภายใน (internal fertilization) ระยะหนึ่งก่อนที่จะถูกปล่อยออกสู่ภายนอก
3. Gonochoric broadcaster มีลักษณะที่ในแต่ละโคโลนี หรือในแต่ละโพลิปมีเพศที่ต่างกัน มีการปล่อยไข่และน้ำเชื้อออกมาผสมกันภายนอกลำตัว
4. Gonochoric brooder ลักษณะที่ในแต่ละโคโลนี หรือในแต่ละโพลิปมีเพศต่างกัน เพศผู้จะปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปผสมภายในโพลิปของกับทางจันทรคติ (lunar cycle) ทั้งข้างขึ้นและข้างแรม ในหลายพื้นที่เกิดขึ้นหลังจาก 15 ค่ำ ประมาณ 5 - 8 วัน สำหรับลักษณะความแตกต่างทางภูมิศาสตร์ ในเขตกึ่งเขตร้อน(sub-tropical)ปะการังมีแนวโน้มที่จะผลิตเซลล์สืบพันธุ์มากในช่วงฤดูร้อนสำหรับในเขตร้อนศูนย์สูตร(tropical)ปะการังมีแนวโน้มที่จะผลิตเซลล์สืบพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี (Veron, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Coral Life Cycles



ภาพที่ 3 แสดงวงจรการสืบพันธุ์ของปะการัง

ที่มา : <http://library.thinkquest.org/J002237/corals/cycle.jpg>

### การศึกษาช่วงเวลาการสืบพันธุ์ของปะการังในฝั่งอ่าวไทย

ปะการังในฝั่งอ่าวไทยนั้นจะมีลักษณะเป็นฤดูกาลโดยส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วงฤดูร้อนก่อนหน้ามรสุมตะวันออกเฉียงใต้ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายนจากการตรวจสอบความสมบูรณ์ของการสืบพันธุ์ของปะการังในธรรมชาติพบว่ามีการังในฝั่งอ่าวไทยอย่างน้อย 11 ชนิดที่มีเซลล์สืบพันธุ์ที่จะพร้อมปล่อยไปผสมกันใน ช่วงฤดูผสมพันธุ์และยังพบอีกด้วยว่ามีปะการังอีก 2 ชนิดที่จะพร้อมปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในช่วงเดือนตุลาคมแสดงถึงการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในช่วงฤดูร้อน ช่วงฤดูหลักและฤดูรองของการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์นี้ตรงกับระยะเวลาระหว่างฤดูมรสุมซึ่งเป็นระยะเวลาที่อ่าวไทยได้รับความร้อนจากดวงอาทิตย์มากที่สุดละมือนุณหภูมิผิวน้ำน่าจะสูงที่สุด (ลลิตา , 2548)นอกจากนี้ยังพบว่าประชากรของปะการังเขากวางชนิดเดียวกันในแนวปะการังฝั่งตะวันออกของฝั่งอ่าวไทยมีการปล่อยเซลล์ก่อนประชากรของแนวปะการังฝั่งภาคใต้ถึง 2 เดือน

## การศึกษาการสืบพันธุ์ของปะการังแข็ง *Montastrea canoversa*

ปะการังแข็งโดยทั่วไปมีการปฏิสนธิภายนอก(External fertilization)โดยทั่วไปแล้วปะการังส่วนมาจะวางไข่ไม่เป็นฤดูกาลหรือกล่าวได้ว่าในแต่ละปีเราไม่สามารถรู้หรือกำหนดได้ว่าปะการังจะวางไข่ได้ในช่วงไหนอันเนื่องมาจากว่ามีปัจจัยทางกายภาพหลายตัวที่เป็นส่วนที่ทำให้การปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของปะการังนั้นไม่สามารถบอกช่วงเวลาได้ปัจจัยทางกายภาพที่เข้ามามีส่วนร่วมในการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์มีหลายอย่างด้วยกัน (Acosta,1997)

1. แสง(Light)เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดอย่างหนึ่งเนื่องจากปะการังมีความสัมพันธ์แบบSymbiosis กับ Zooxanthellae ซึ่งเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของปะการัง โดยทั่วไปเราสามารถพบปะการังอยู่ในระดับน้ำลึกถึง50 เมตร แต่ในประเทศไทยมีอยู่เพียงไม่กี่แห่งที่สามารถพบปะการังได้ในที่ลึกขนาดนั้น
2. อุณหภูมิ(Temperature) ปะการังเจริญเติบโตได้ดีในน้ำทะเลที่มีอุณหภูมิค่อนข้างสูงดังนั้นจึงพบแนวปะการังในทะเลเขตร้อนเท่านั้น อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วงอุณหภูมิเฉลี่ย 23 – 28 องศาเซลเซียส (ธรรมศักดิ์,2548)การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างรวดเร็วจะส่งผลกระทบต่อปะการัง
3. ความเค็ม (Salinity) ปะการังเติบโตในน้ำทะเลที่มีความเค็มประมาณ 30 – 36 ppt ดังนั้นน้ำฝนหรือน้ำจืดจากแผ่นดินที่ไหลลงมาเป็นปริมาณมากอาจก่อให้เกิดความเสียหายให้แก่แนวปะการังได้ เราจะไม่พบปะการังในบริเวณที่มีความเค็มต่ำ
4. ปริมาณตะกอนในน้ำ (Sediment) จะมีผลยับยั้งการก่อตัวของแนวปะการัง เนื่องจากความขุ่นที่เกิดจากตะกอนแขวนลอยเป็นตัวลดปริมาณแสงที่ส่องลงใต้ผิวน้ำทำให้Zooxanthellaสังเคราะห์แสงได้น้อยลง อัตราการสร้างหินปูนจึงลดลง นอกจากนี้เมื่อเกิดการตกตะกอนจะทำให้ปะการังถูกทับถมอยู่ภายใต้ตะกอน จึงไม่สามารถเติบโตหรือดำรงชีวิตอยู่ได้(Waller et al. , 2002)
- 5.คลื่นและกระแสน้ำ (wave and Current) ปะการังต้องการพื้นที่ซึ่งมีน้ำไหลเวียนได้ดี แต่หากมีคลื่นรุนแรงปะการังส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่ไม่ได้ คลื่นและกระแสน้ำยังมีผลต่อปัจจัยอื่นๆ ด้วย อาทิเช่น คลื่นทำให้ตะกอนทรายฟุ้งขึ้นมา คลื่นที่ซัดแรงจะเป็นตัวควบคุมลักษณะยอดของปะการังน้ำตื้นและการแพร่กระจายของปะการัง นอกจากนี้พายุ คลื่นลม จะมีบทบาทสำคัญในการกำหนดรูปร่างลักษณะของปะการังด้วย
6. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ( Dissolved Oxygen : DO) ปะการังหายใจโดยใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำทะเลและยังได้ออกซิเจนที่เกิดจากผลของการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย Zooxanthellaeในตัวปะการังเองออกซิเจนจะถูกใช้โดยการแลกเปลี่ยนก๊าซแบบธรรมดา(diffusion) ไม่มีระบบหายใจเป็นพิเศษ ดังนั้นปะการังจึงต้องการปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำค่อนข้างสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การศึกษาเรื่องเนื้อเยื่อของปะการัง

การศึกษาเรื่องเนื้อเยื่อของปะการังนั้นยังไม่มีคนที่ทำการศึกษามากนักดังนั้นผลของการศึกษาส่วนมากก็จะเป็นเพียงแนวทางในการดำเนินการศึกษาการวิจัยข้อมูลเกี่ยวกับเนื้อเยื่อปะการังต่อไปโดยที่การศึกษาส่วนมาจะอยู่ที่บริเวณฝั่งยุโรปหรืออเมริกาล่าสุดที่ทำการศึกษาอย่างชัดเจนพบว่าได้มีกาทำการศึกษาที่ Hawaii โดยที่ทำการทดลองศึกษาเกี่ยวกับเนื้อเยื่อปะการัง 4 ชนิดโดยทำการศึกษาในช่วงฤดูร้อนปี 1997 โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างปะการังมาทดลองดังนี้

**ตารางที่ 1** แสดงจำนวนของปะการังที่เก็บมาทั้งหมด

วันที่เก็บตัวอย่าง	<i>Porites compressa</i>	<i>Porites lobata</i>	<i>Porites evermanni</i>
18-19 มิถุนายน	3	1	1
20-21 มิถุนายน	1	2	1
4-6 กรกฎาคม	2	3	2
19-20 กรกฎาคม	3	2	3

ที่มา : Neves et al. (1997)

**ตารางที่ 2** ขนาดของเซลล์สปีพันท์เพคเมีย (ไมครอน)

date	mean	SD	range
18 มิถุนายน	174.40	45.47	91.31-273.92
19 มิถุนายน	207.14	45.47	104.35-319.58
19 กรกฎาคม	228.53	48.79	130.44-371.75

ที่มา : Neves et al. (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3** ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้(ไมครอน)

date	n	mean	SD
20มิถุนายน	25	103.83	29.94
4กรกฎาคม	28	100.96	38.27
4กรกฎาคม	50	211.31	61.67
19กรกฎาคม	50	150.79	55.09

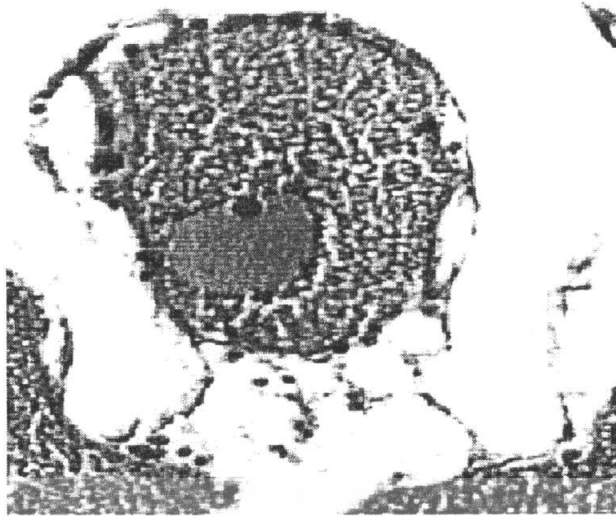
**ที่มา :** Neves et al. (1997)



**ภาพที่4** แสดงOocyteของปะการังPortes lobataในระยะที่4ที่พบที่Hawaii

**ที่มา :** [http://www.hero.ac.uk/resources/C\\_Coral\\_vs\\_cricket\\_300.jpg](http://www.hero.ac.uk/resources/C_Coral_vs_cricket_300.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 Oocyte ของปะการัง *Porites lobata* ในระยะที่ 3 ที่พบที่ Hawaii

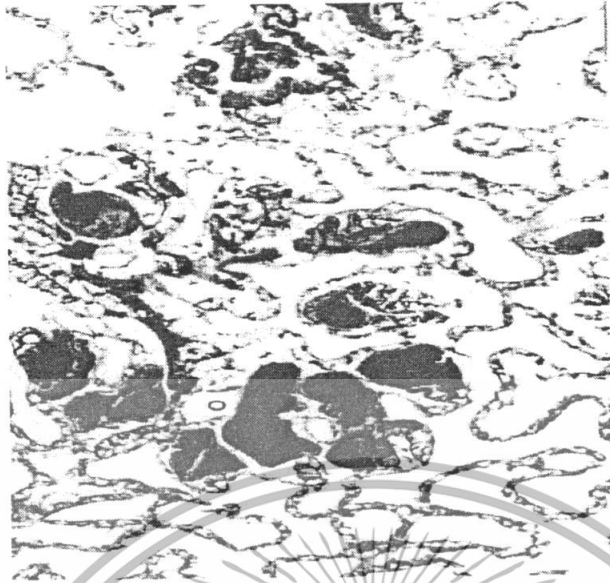
ที่มา : [http://www.hero.ac.uk/resources/C\\_Coral\\_vs\\_cricket\\_305.jpg](http://www.hero.ac.uk/resources/C_Coral_vs_cricket_305.jpg)



ภาพที่ 6 Spermatoocyte ของปะการัง *Porites lobata* ในระยะที่ 4 ที่พบที่ Hawaii

ที่มา : [http://www.hero.ac.uk/resources/C\\_Coral\\_vs\\_cricket\\_355.jpg](http://www.hero.ac.uk/resources/C_Coral_vs_cricket_355.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 Oocyteของปะการัง*Porites lobata*ในระยะที่2ที่พบที่Hawaii

ที่มา : [http://www.hero.ac.uk/resources/C\\_Coral\\_vs\\_cricket\\_325.jpg](http://www.hero.ac.uk/resources/C_Coral_vs_cricket_325.jpg)



ภาพที่ 8 Spermatocyteของปะการัง*Porites lobata*ในระยะที่3ที่พบที่Hawaii

ที่มา : [http://www.hero.ac.uk/resources/C\\_Coral\\_vs\\_cricket\\_308.jpg](http://www.hero.ac.uk/resources/C_Coral_vs_cricket_308.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

#### 1. อุปกรณ์สำหรับการเก็บตัวอย่าง

##### 1.1 ชุดดำน้ำ

##### 1.2 ค้อน

##### 1.3 ชีว

##### 1.4 ตะกร้าเก็บตัวอย่าง

#### 2. อุปกรณ์สำหรับการขจัดหินปูน(Decalcified)

##### 2.1 formalin 40%

##### 2.2 HCL

#### 3. อุปกรณ์สำหรับการทำเนื้อเยื่อ(Histopathology)

##### 3.1 block

##### 3.2 Parafin

##### 3.3 เครื่อง Tissue processer

##### 3.4 โมล

##### 3.5 ใบมีด

##### 3.6 เครื่องไมโครโตม

##### 3.7 Forcept

##### 3.8 อ่างลอยชิ้นเนื้อ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 Slide warmer

3.10 slide

3.11 กระจกปิดสไลด์

4. อุปกรณ์สำหรับย้อมสี H&E

5. กล้องจุลทรรศน์

### วิธีการทดลอง

การศึกษาถึงระบบการสืบพันธุ์ของปะการังโขด (*Porites lobata*) ในสองช่วงเวลาคือในช่วงเดือนพฤษภาคม 2550 และช่วงเดือนมกราคม 2551 โดยจะทำการสำรวจในช่วงเช้าของวันที่ทำการทดลองและลงเก็บตัวอย่างมาแล้วนำไปวิเคราะห์ที่ห้องแลปโดยทำตามวิธีการของขั้นตอนการทำ Histopathology หลังจากนั้นก็นำภาพที่ได้จากการทำเนื้อเยื่อมาตรวจสอบสถานะของเซลล์สืบพันธุ์

1. เก็บตัวอย่างปะการังโขด (*Porites lobata*) ที่บริเวณเกาะเตень จังหวัดสุราษฎร์ธานี
2. นำตัวอย่างที่เก็บได้มาทำการ Fixation ที่ formalin 10%
3. นำตัวอย่างที่เก็บได้มาวิเคราะห์ที่ห้องแลป
4. นำตัวอย่างปะการังที่ได้มาทำการขจัดหินปูนโดยทำการ เตรียมฟอรมาลีน 40% 10 ml. แล้วเติม HCL 1 ml. จากนั้นเติมน้ำให้ครบ 100 ml. จะได้สารละลายกรดที่มีความเข้มข้น 1% ทิ้งไว้ 2 วัน จากนั้นเปลี่ยนเป็นสารละลายกรดที่มีความเข้มข้น 5% โดยการเพิ่ม HCL เป็น 5 ml ทิ้งไว้ 2 วัน และขั้นตอนสุดท้ายเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเป็น 10% โดยการเพิ่ม HCL เป็น 10 ml ทิ้งไว้ 2 วัน จนหินปูนออกจนหมดโดยสังเกตได้จากการที่ชิ้นเนื้อจะลอยขึ้นมาเอง
5. Paraffin technique เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษา Histopathology ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Obtaining

เป็นขั้นตอนการเก็บเนื้อเยื่อ ทั้งนี้ในการเก็บเนื้อเยื่อที่ต้องการต้องคำนึงถึงลักษณะทางกายวิภาคที่มองเห็น (gross anatomy) ,ความชอกช้ำ (atraumatic), ความสะอาด (sterile technique) และขนาดของเนื้อเยื่อที่เก็บ ซึ่งการเก็บเนื้อเยื่อนั้นสามารถเก็บเนื้อเยื่อได้จาก 2 แห่ง Biopsy เป็นการตัดชิ้นเนื้อส่วนใดส่วนหนึ่งออกจากสิ่งที่มีชีวิต เช่นการใช้ needle คูดเซลล์ออกมา หรือจากการผ่าตัด Autopsy (Necropsy) เป็นการตัดเอาชิ้นเนื้อออกจากสิ่งที่ตายแล้วหลังการเก็บเนื้อเยื่อต้องนำไปแช่ใน fixative ทันทีเพื่อป้องกันการเน่าเปื่อยของเนื้อเยื่อ (tissue autolysis)

## Fixation

เป็นขั้นตอนการคงสภาพเนื้อเยื่อเพื่อป้องกันการเกิด tissue autolysis ทำให้เนื้อเยื่อที่เป็น semi- fluid เป็น semi-solid ซึ่งจะง่ายต่อขั้นตอนการตัด (trim) ชิ้นเนื้อ และทำให้เห็นส่วนต่างๆ ภายในเนื้อเยื่อได้ดี โดยการย้อมสีหรือสารเคมีต่างๆ ซึ่ง fixative ที่ดีต้องมีคุณสมบัติในการหยุดการเปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะการเสื่อมสลายภายในเซลล์ได้เร็ว เป็นผลจากการเกิดการแข็งตัวหรือตกตะกอนโปรตีนภายในเซลล์ (denature proteins) fixative ที่นิยมใช้ได้แก่ 10% buffer formaline อัตรา 1 : 10 อย่างน้อย 24 hrs. หรือ Bouin's solution

## Washing

เป็นการใช้น้ำเปล่าล้าง fixative ออกจากเนื้อเยื่อ ซึ่งถ้าหากเราใช้ 10% buffer formaline ให้ทำการล้างด้วยน้ำสะอาดที่ไหลตลอดเวลา แต่ถ้าหากใช้ Bouin's solution ให้ใช้ 50% ethanol แช่นาน 4-6 hrs.

## Dehydration

เป็นขบวนการทำให้ชิ้นเนื้อแห้งน้ำ โดยใช้ขบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ โดยการใช้ dehydrant เช่น acetone, ethanol, isopropyl alcohol แต่โดยมากนิยมใช้ ethanol ทั้งนี้เริ่มจากความเข้มข้นต่ำไปหาสูง เช่น ใช้ 70%,80%,95% และ 100% ethanol ตามลำดับในขั้นตอนนี้เราจะนำไปเข้าเครื่องมือที่เรียกว่า Tissue processor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Clearing

เป็นการนำชิ้นเนื้อที่แห้งนำไปแช่ในสารละลายอินทรีย์ เพื่อเป็นการนำ dehydrant ออกจากเนื้อเยื่อโดยให้ clearing agent เข้าไปแทนที่ โดยที่ clearing agent ต้องมีคุณสมบัติที่สามารถละลายได้ใน dehydrant และเป็น embedding media ตัวอย่างเช่น Xylene, acetone, benzene

## Infiltration

เป็นขั้นตอนที่นำสาร embedding media เข้าสู่เนื้อเยื่อ เพื่อให้ทำการตัดมากยิ่งขึ้น สารที่นิยมใช้ คือ paraffin, parapass

## Embedding

เป็นการฝังตัวอย่างเนื้อเยื่อลงใน paraffin หลอมเหลว (embed) ก่อนที่จะนำเนื้อเยื่อนั้นมาตัด โดยจะใช้แบบ (mold) จากนั้นเมื่อเราแกะพิมพ์ออกมาจะได้เป็นลักษณะ paraffin block

## Sectioning

เป็นการตัดชิ้นเนื้อที่ฝังอยู่ใน paraffin block โดยทั่วไปชิ้นเนื้อที่ตัดจะมีความหนาประมาณ 5 micron ด้วยเครื่อง microtome ชิ้นเนื้อที่ได้นั้นจะมีลักษณะเป็น ribbon

## Adhesion

การนำ section ที่ตัดได้นั้นมายึดติดบนแผ่น slide แก้ว ซึ่งทำโดยการนำ section นั้นมาลอยใน water bath 50°C ที่ผสม gelatin จากนั้นช้อน section ด้วย glass slide แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้บนเครื่อง warmer

## Staining & Mounting

เป็นการย้อมสีเพื่อให้เห็น contrast ใน tissue มากขึ้น โดยสีที่นิยมใช้ได้แก่สี Hematoxylin % Eosin (H&E) หลังจากนั้นเราจะทำการหยด permount แล้วปิดทับด้วย cover slip เพื่อป้องกันเนื้อเยื่อไม่ให้เกิดการขูดขีด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการย้อมสี H&E

xylene I	3-5 min
xylene II	3-5 min
absolute alcohol I	2 min
absolute alcohol II	2 min
95% alcohol	1-2 min
70% alcohol	1-2 min
slowly dripping tep water	3-5 min
hematoxylin stain	1-5 min
slowly dripping tep water	3-5 min
blue the hematoxylin with few drop ammonia in tap water	3-5 min
wash in slowly dripping tep water	3-5 min
70% alcohol	1-2 min
95% alcohol	1-2 min
eosin staining	1-3 min
absolute alcohol I	1-2 min
absolute alcohol II	1-2 min
absolute alcohol III	1-2 min
xylene I	2-3 min
xylene II	2-3 min
xylene III	2-3 min
mount	

6. หลังจากนั้นเราก็จะได้สไลด์ถาวรมาแล้วสไลด์ที่ได้มาศึกษาลักษณะของเนื้อเยื่อและเซลล์  
สีบัพันธ์ของปะการังใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การบันทึกข้อมูล

ทำการนับจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียจากนั้นทำการถ่ายรูปของเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียที่พบนำภาพที่ได้จากการถ่ายมาวัดขนาดของเซลล์สืบพันธุ์ นำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลโดยดูเทียบจากรูปภาพว่าเซลล์สืบพันธุ์อยู่ในระยะใด

## การวิเคราะห์ข้อมูล

ระยะของระบบสืบพันธุ์ของปะการังเพศเมียมีอยู่5ระยะ

- ระยะที่1. โอโอไซด์พัฒนาขึ้นที่1
- ระยะที่2. มีการรวมตัวกันของไซโตพลาสซึม
- ระยะที่3. ไซโตพลาสซึมเพิ่มมากขึ้น
- ระยะที่4. ไข่พร้อมที่จะผสมพันธุ์
- ระยะที่5. ปล่อนไข่

ระยะของระบบการสืบพันธุ์ของปะการังเพศผู้มี5ระยะ

- ระยะที่1. เป็นระยะที่ยังไม่สามารถมองเห็นได้จากเซลล์ยังอยู่เป็นแบบกระจัดกระจาย
- ระยะที่2. เป็นระยะที่เซลล์สืบพันธุ์เริ่มมีการรวมกลุ่มกัน
- ระยะที่3. เป็นระยะที่จะเห็นเซลล์สืบพันธุ์เป็นลักษณะ cytes
- ระยะที่4เป็นระยะที่ cytes ลงเกาะที่เนื้อเยื่อ
- ระยะที่5. เป็นระยะที่ปล่อนเซลล์สืบพันธุ์ออกด้านนอก

## สถานที่ทำการทดลอง

เกาะแตน จังหวัดสุราษฎร์ธานี

## ระยะเวลาในการทำการทดลอง

เก็บตัวอย่างเดือนพฤษภาคม2550และเดือนมกราคม2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการทดลองและวิจารณ์

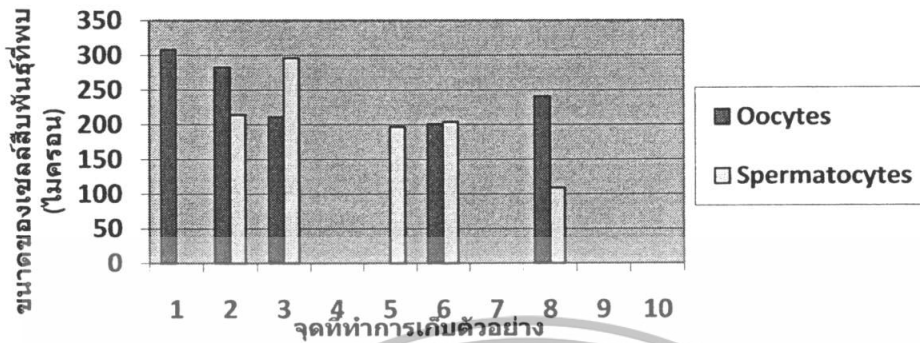
ระบบสืบพันธุ์ของ *Porites lobata* ภายในจะพบว่าจะมีการกระจายตัวของเซลล์สืบพันธุ์ ทั้งเพศผู้และเพศเมียโดยรอบจะสังเกตเห็นว่าภายในโคโลนีของ *Porites lobata* จะมีการแบ่ง ออกเป็นสองระยะในช่วงที่ทำการศึกษาในเดือนพฤษภาคมและมกราคมจากการศึกษาพบว่า ปะการัง *Porites lobata* จะมีการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเมียที่ไม่พร้อมกันถึงแม้ว่า จะอยู่ภายในโพลิบเดียวกันก็ตามตรงตามข้อมูลการวิจัยของ Szmant et al. (1980)ว่าจะไม่มี ความสัมพันธ์กันระหว่างขนาดของโพลิบ, ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์และรูปแบบของการสืบพันธุ์ไข่ และสเปิร์มที่อยู่ภายในโพลิบจะมีจำนวนที่ไม่เท่ากันและยังมีช่วงระยะของการเจริญเติบโตที่ไม่ เท่ากันอีกด้วยโดยที่จะพบว่าบางโพลิบก็มีเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียบางโพลิบก็มีเพียงชนิด หนึ่งชนิดในช่วงของระยะการเจริญเติบโตของเซลล์สืบพันธุ์นั้นโดยส่วนมากในเดือนพฤษภาคมจะ อยู่ในช่วงระยะที่3และ4และในช่วงเดือนมกราคมจะอยู่ในช่วงที่2และ3



ภาพที่9 ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์ที่พบในเดือนพฤษภาคม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์ที่พบในเดือนมกราคม



ภาพที่ 10 ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์ที่พบในเดือนมกราคม

ตารางที่ 4 ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้(ไม่ครอน)

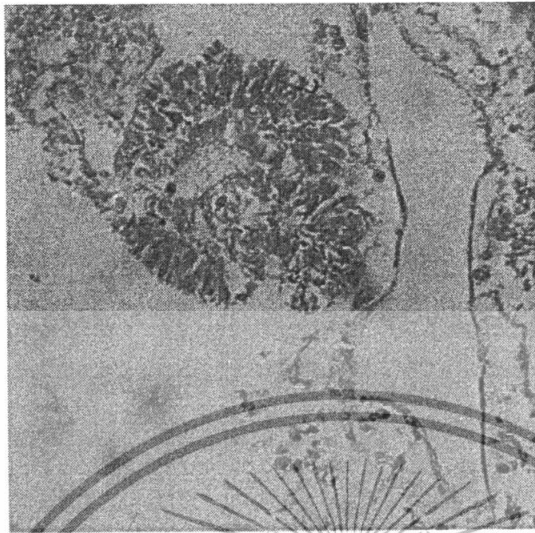
date	mean	SD
พฤษภาคม 2550	249.66	34.58
มกราคม 2551	200.85	54.85

ตารางที่ 5 ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย(ไม่ครอน)

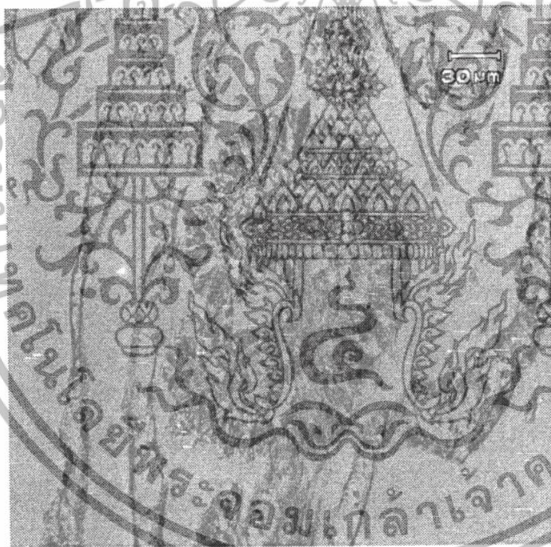
date	mean	SD
พฤษภาคม 2550	241.96	52.96
มกราคม 2551	237.22	37.88

ระยะของ *Porites lobata* ในระยะที่ 3 และ 4 ของไข่จากการศึกษาค้นพบโดย Glynn et al. (1994) พบว่าเกิดจากการรวมกลุ่มกันอย่างเห็นได้ชัดของเซลล์ภายในโพลีปแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของการเจริญเติบโตโดยที่เซลล์สืบพันธุ์จะเคลื่อนตัวเข้าสู่ gastrovascular cavity Elizabeth et al. (1997) ส่วนการเจริญเติบโตของเพศผู้ในระยะแรกไม่สามารถมองเห็นได้ชัดแต่เราจะเห็นได้อย่างชัดเจนเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะที่ 3 โดยจะเกิดการรวมตัวเป็น cytes และฝังตัวสู่น้ำเยื่อของปะการัง Juan et al. (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

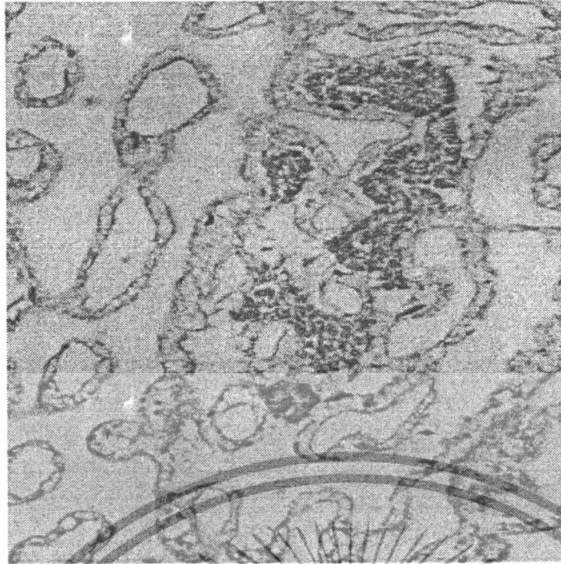


ภาพที่11 เซลล์สืบพันธุ์พืชที่พบในเดือนพฤษภาคม 2550



ภาพที่12 เซลล์สืบพันธุ์พืชเมียที่พบในเดือนพฤษภาคม 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่13 เซลล์สปีพันธุพืชเมื่อยที่พบในเดือนมกราคม2551



ภาพที่14 เซลล์สปีพันธุพืชผู้ที่พบในเดือนมกราคม2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรุปผลการทดลอง

จากการในช่วงเดือนพฤษภาคม 2550 พบว่าปะการัง *Porites lobata* จะมีสมบรูณ์ของเซลล์สืบพันธุ์อยู่ในระยะที่ 3 และระยะที่ 4 อธิบายได้ว่าเป็นช่วงเวลาที่มีการรวมตัวกันของไซโตพลาสซึมเกินกว่า 50% ภายในโอโอไซต์ ส่วน Spermatoocyte จะพบว่ามีลักษณะรวมตัวกันของเซลล์เป็นกลุ่มๆ ขนาดของ Oocyte จะอยู่ในช่วง 156 ถึง 344 ไมครอน ค่าเฉลี่ยจะอยู่ที่ 241.90 ไมครอน ส่วน Spermatoocyte จะอยู่ในช่วง 203 ถึง 303 ไมครอน ค่าเฉลี่ยจะอยู่ที่ 249.66 ไมครอน จากการศึกษาในช่วงเดือนมกราคม 2551 พบว่าปะการัง *Porites lobata* จะมีสมบรูณ์ของเซลล์สืบพันธุ์อยู่ในระยะที่ 2 และระยะที่ 3 อธิบายได้ว่าเป็นช่วงเวลาที่มีการรวมตัวกันของไซโตพลาสซึมแรกๆ ภายในโอโอไซต์ ส่วน Spermatoocyte จะพบว่ามีลักษณะเป็น cytes เกาะที่เนื้อเยื่อขนาดของ Oocyte จะอยู่ในช่วง 201 ถึง 308 ไมครอน ค่าเฉลี่ยจะอยู่ที่ 237.22 ไมครอน ส่วน Spermatoocyte จะอยู่ในช่วง 109 ถึง 296 ไมครอน ค่าเฉลี่ยจะอยู่ที่ 200.85 ไมครอน ระบบสืบพันธุ์ของ *Porites lobata* ภายในจะพบว่าจะมีการกระจายตัวของเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียโดยรอบจะสังเกตเห็นว่าภายในโคโลนีของ *Porites lobata* จะมีการแบ่งออกเป็นสองระยะในช่วงที่ทำการศึกษาในเดือนพฤษภาคมและมกราคม จากการศึกษาพบว่าปะการัง *Porites lobata* จะมีการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเมียที่ไม่พร้อมกันถึงแม้ว่าจะอยู่ภายในโพลิบเดียวกันก็ตาม ตรงตามข้อมูลการวิจัยของ Szmant et al. (1980) ว่าจะไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างขนาดของโพลิบ, ขนาดของเซลล์สืบพันธุ์ และรูปแบบของการสืบพันธุ์, ไข่และสเปิร์มที่อยู่ภายในโพลิบจะมีจำนวนที่ไม่เท่ากันและยังมีช่วงระยะของการเจริญเติบโตที่ไม่เท่ากันอีกด้วย โดยที่พบว่าบางโพลิบก็มีเซลล์สืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียบางโพลิบก็มีเพียงชนิดหนึ่งชนิดใดช่วงของระยะการเจริญเติบโตของเซลล์สืบพันธุ์นั้นโดยส่วนมากในเดือนพฤษภาคมจะอยู่ในช่วงระยะที่ 3 และ 4 และในช่วงเดือนมกราคมจะอยู่ในช่วงที่ 2 และ 3

## เอกสารอ้างอิง

ธรรมศักดิ์ ยี่มิน. 2542. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของปะการังชนิด *Acropora hyacinthus* ใน  
อ่าวไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง. 52หน้า

ลลิตา ปัจฉิมและคณะ. 2549. การปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในฝั่งอ่าวไทย. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ปีที่  
5ฉบับที่1. หน้า 41-43

Acosta,a.S.Zea. 1997. Sexual reproduction of coral *Montastrea canosa* (Scleractinia :  
Faviidae) in the santa mata area ,Caribbean cost of Coloumbia. Marine biology(1997)  
128: 141-148.

Elizabeth,G.Neves. 1997. Histological analysis of reproductive trends of three *Porites*  
species from Kane ohe Bay, Hawaii. Department of invertebrates(1997) 1: 8-20.

Harrison,P.L.and Wallace,C.C. 1990. Reproduction, dispersal and recruitment of  
scleractinian coral, in: Dubinsky, Z.(ed)Coral Reef Ecosystems. Elsevier, Amsterdam.

Jokiel,P.L.Y.ito and P.M.Liu. 1985.Night irradiance and synchronization of lunar release  
of plannula larvae in the reef coral *Pocillopoda daicornis*.

Juan, L.T.Mate. 1997. New reports on timing and ode of reproduction of Hawaiian coral.

Ryland, J.S. and R.C. Babock. 1991.Annual cycle of gemetogenesis and spawning in a  
tropical zoanthid *Protospalythoa* sp. Hydrobiologia 216/217 : 117-123.

Waller,R.G.P.A.Tylerand,J.D.Gage.2002. Reproductive ecology of the deep-sea  
Scleractinian coral *Fungiacyathus marenzelleri*(Vaughan, 1906) in the northeast Atlantic  
Ocean. Coral Reef 21: 325-331.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้