การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ

น.ส.กมลพร พัฒนศิริ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Use of zooxanthellae for bleaching recovery of cauliflower coral, *Pocillopora damicornis* in laboratory

Miss Kamonporn Patthanasiri

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy in Marine Science
Department of Marine Science
FACULTY OF SCIENCE
Chulalongkorn University
Academic Year 2020

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ
โดย	น.ส.กมลพร พัฒนศิริ
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมศักดิ์ ยีมิน

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรณพ วิยกาญจน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมศักดิ์ ยีมิน)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ศุภณัฐ ไพโรหกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิภูษิต มัณฑะจิตร)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.เชษฐพงษ์ เมฆสัมพันธ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.วิรัลดา ภูตะคาม)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กมลพร พัฒนศิริ : การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ. (Use of zooxanthellae for bleaching recovery of cauliflower coral, *Pocillopora damicornis* in laboratory) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร.ธรรมศักดิ์ ยีมิน

ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว เกิดขึ้นเมื่อสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม โดยเฉพาะเมื่ออุณหภูมิน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้น และ ความเค็มของน้ำทะเลลดต่ำลง เมื่อเกิดการฟอกขาว ปะการังมีการปรับตัวต่อสภาวะนี้แตกต่างกัน และปะการังที่เกิดฟอกขาวบางส่วนสามารถรับซูแซนเทลลีจากมวลน้ำและเกิดการร่วมอาศัยใหม่อีกครั้งเพื่อฟื้นตัวจากการฟอกขาว เพื่อให้ทราบบทบาทของซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวของปะการังฟอกขาว การศึกษาครั้งนี้ จึงแบ่งการทดลอง 3 การทดลองหลัก ได้แก่ 1) ผลของอุณหภูมิ (27 30 และ 33 องศาเซลเซียส) และความเค็ม (10 20 และ 30 psu) ต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี 2) ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ และ 3) การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ซึ่งเก็บจาก 3 สถานีบริเวณเกาะแสมสาร ได้แก่ สถานีเขาหมาจอ เกาะปลาหมึก และจุดดำน้ำหาดเทียน และทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาพบว่า เมื่อปะการังอยู่ที่ระดับอุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็ม 10 psu พบการฟอกขาวสูงถึง 50-90% และพบซูแซนเทลลีหลุดออกมาในมวลน้ำด้วยความเข้มข้นเซลล์มากที่สุด และที่ภายใต้สภาวะเดียวกันนี้ ซูแซนเทลลีไม่สามารถเติบโตได้ เซลล์ส่วนใหญ่ตายในวันที่ 4 ของการทดลอง โดยพบความหนาแน่นน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น และเซลล์ที่พบในกลุ่มการทดลองนี้มีสีจางลง และสูญเสียรงควัตถุภายในเซลล์อย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ ชี้ให้เห็นว่า อุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส และความเค็มต่ำ 10 psu ส่งผลต่อการเติบโตของซูแซนเทลลีและการฟอกขาวของปะการัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออยู่ภายใต้สองปัจจัยร่วมกัน และเมื่อให้ซูแซนเทลลีกับปะการังที่ฟอกขาว พบว่า กิ่งปะการังที่ฟอกขาวประมาณ 5% สามารถฟื้นตัวจากการฟอกขาวได้ หากภายหลังฟอกขาวอุณหภูมิค่อยๆลดต่ำลงจนถึงระดับควบคุม

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5772864823 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEYWORD: zooxanthellae, cauliflower coral, coral bleaching, temperature, salinity

Kamonporn Patthanasiri : Use of zooxanthellae for bleaching recovery of cauliflower coral, *Pocillopora damicornis* in laboratory. Advisor: Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, Ph.D. Co-advisor: Assoc. Prof. Thamasak Yeemin, Ph.D.

To identify the role of zooxanthellae for bleaching recovery, this study was subdivided into three experiments; 1) The effects of temperature (27 control, 30 and 33 $^{\circ}$C) and salinity (10, 20 and 30 psu) on the growth of zooxanthellae; 2) The combined effects of temperature and salinity on coral bleaching; 3) Use of zooxanthellae for bleaching recovery in the laboratory. This study was conducted in aquariums under laboratory conditions on cauliflower coral *Pocillopora damicornis*, collected from 3 sites around Samaesan Island, Chonburi, Thailand. The results showed that when coral exposed to the highest temperature (33 $^{\circ}$C) under lowest salinity (10 psu), 50-90% bleaching was found with the highest symbiont densities in the water column detected. At this condition, zooxanthellae that isolated from 7 marine invertebrates, most cells died on day 4 of experiment and those cells in the water column were similar to normal cells in shape and size but clearly pale in colors with less cytoplasmic organelles than the normal cells. The bleached nubbins (< 5%) exposed to zooxanthellae can recovery when after the thermal stress, the temperature turns to normal condition. These results suggested that the combination of the high temperature and low salinity affect zooxanthellae and coral bleaching.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Field of Study: Marine Science

Academic Year: 2020

Student's Signature .....

Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธรรมศักดิ์ ยีมิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ธรรมวานิช และกรรมการทุกท่าน ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำด้านวิชาการและแนวทางในการทำวิจัย ข้อคิดเห็นต่างๆ รวมทั้งการติดต่อประสานงานกับหน่วยงานต่างๆ ตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงอ่าวไทยตะวันออก จ.ระยอง และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) สำหรับการสนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย กระทรวงศึกษาธิการ ที่สนับสนุนการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา และทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนทุนวิจัย

ขอขอบพระคุณอิงอร ทองคำดี คุณนันทภัค โพธิสาร และสมาชิกห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอนพืชทะเลทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ท้ายนี้กราบขอบพระคุณครอบครัว และกัลยาณมิตรทุกท่านที่ให้การสนับสนุน ให้การช่วยเหลือและให้กำลังใจ เป็นแรงผลักดันให้งานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กมลพร พัฒนศิริ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญรูป ..... ฏ
บทที่ 1 1
บทนำ 1
วัตถุประสงค์ 2
ขอบเขตการศึกษา 2
บทที่ 2 3
สำรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
1. ซูแซนเทลลี (zooxanthellae) 3
วัฏจักรเซลล์ 5
สายพันธุ์ซูแซนเทลลี 7
2. ความสัมพันธ์ของซูแซนเทลลีและผู้ให้อาศัย 8
ความสำคัญของซูแซนเทลลีต่อปะการังและผู้ให้อาศัยชนิดอื่น 9
3. ปะการังดอกกะหล่ำ Pocillopora damicornis 10
4. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อซูแซนเทลลีและปะการัง 11
5. การปรับตัวของปะการังต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงและการฟื้นตัวจากการฟอกขาว 15
บทที่ 3 18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการศึกษา 18
1. พื้นที่ศึกษาและปัจจัยศึกษา 18
2. การแยกและเลี้ยงซูแซนเทลลี 20
3. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี 21
วิเคราะห์ผลทางสถิติ 23
4. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ 24
5. การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* 28
6. การศึกษาสายพันธุ์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลี 31
6.1 การเตรียมและเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สายพันธุ์ซูแซนเทลลี 31
6.2 การสกัดสารพันธูกรรม (DNA Extraction) 31
6.3 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase Chain Reaction หรือ PCR) 31
6.4 การตรวจวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม 32
บทที่ 4 33
ผลการศึกษา 33
1. การแยกและเลี้ยงซูแซนเทลลี 33
2. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี 34
ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม (27 องศาเซลเซียส) 35
ที่ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 37
ที่ระดับอุณหภูมิสูงที่สุดของการทดลอง 33 องศาเซลเซียส 40
ผลวิเคราะห์ทางสถิติ 42
ลักษณะเซลล์ซูแซนเทลลี 43

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ 45
ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส 45
ที่ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 47
ที่ระดับอุณหภูมิสูงที่สุดของการทดลอง 33 องศาเซลเซียส 49
4. การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* 55
4.1 ชุดการทดลองที่ 1 55
4.2.ชุดการทดลองที่ 2 60
5. การศึกษาสายพันธุ์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลี 66
บทที่ 5 67
อภิปรายผลการศึกษา 67
1. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี 67
2. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ 68
3. การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* 70
4. การศึกษาสายพันธุ์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลี 71
บทที่ 6 72
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ 72
1. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี 72
2. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ 72
3. การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* 73

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4. การศึกษาสายพันธุ์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลี 73
ข้อจำกัดของการศึกษา 73
ข้อเสนอแนะ 74
ภาคผนวก 75
ภาคผนวก ก 76
ภาคผนวก ข 97
บรรณานุกรม 98
ประวัติผู้เขียน 103

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 การออกแบบการทดลอง ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี... 22

ตารางที่ 2 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ ที่ระดับอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส 34

ตารางที่ 3 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ ที่ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 37

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญรูป

รูปที่ 1 เซลล์ซูแซนเทลลี (zooxanthellae) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกกะหล่ำ.....3

รูปที่ 2 เซลล์ซูแซนเทลลี coccoid form (ซ้ายมือ) เซลล์กลมไม่เคลื่อนที่ และเซลล์ซูแซนเทลลีแบบ gymnodinoid form (ขวามือ) เซลล์เคลื่อนที่โดยใช้ flagella (LaJeunesse 2020).....4

รูปที่ 3 องค์ประกอบภายในเซลล์ซูแซนเทลลี ที่อาศัยอยู่ภายใน Symbiosome vacuole ของผู้ให้อาศัย และอยู่ใกล้กับนิวเคลียสของผู้ให้อาศัย (LaJeunesse 2020).....5

รูปที่ 4 วัฏจักรเซลล์ของซูแซนเทลลี ระหว่างช่วงมืดและช่วงสว่าง ระยะ G_1, G_1/S และ G_2/M (Stambler 2011)..... 6

รูปที่ 5 ความหลากหลายของปะการังในแนวปะการังบริเวณชายฝั่ง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความหลากหลายของซูแซนเทลลี (LaJeunesse 2020).....8

รูปที่ 6 ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* บริเวณจุดดำน้ำหาดเทียน เกาะแสมสาร..11

รูปที่ 7 กลไกของเซลล์ซูแซนเทลลีที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง โดยเมื่อเซลล์ซูแซนเทลลีอยู่ภายใต้อุณหภูมิสูงในระยะแรก มีการเพิ่มอัตราการเผาผลาญพลังงานและแบ่งเซลล์ เมื่ออยู่ภายใต้ระดับอุณหภูมิสูงต่อเนื่อง เซลล์สร้าง Reactive Oxygen Species (ROS) เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และระบบแสง 2 และเมื่ออยู่ที่ระดับอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานาน พบว่าลิพิด โปรตีน และ DNA ถูกทำลาย เซลล์เสียหาย ส่งผลให้เซลล์ตายหรือถูกขับออกจากปะการัง (Lesser 2010) 13

รูปที่ 8 ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ฟอกขาว บริเวณเกาะแสมสาร..... 14

รูปที่ 9 สถานีศึกษา รอบเกาะแสมสาร อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี 19

รูปที่ 10 ซูแซนเทลลีที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 21

รูปที่ 11 แปลงอนุบาลกิ่งปะการังสำหรับการทดลอง บริเวณเขาหมาจอ..... 24

รูปที่ 12 ระบบการทดลองผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ... 26

รูปที่ 13 Coral Health Chart และตัวอย่างการเทียบสี (จัดทำโดย The University of Queensland) 27

รูปที่ 14 แผนผังการทดลองการใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ ... 30

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 15 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีซึ่งเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ 36

รูปที่ 16 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีซึ่งเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ 39

รูปที่ 17 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีซึ่งเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ 41

รูปที่ 18 เซลล์ซูแซนเทลลีปกติ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิและความเค็มควบคุม 44

รูปที่ 19 เซลล์ซูแซนเทลลีซึ่งสูญเสียรงควัตถุภายในเซลล์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูง (33 องศาเซลเซียส) ภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง (10 psu) 44

รูปที่ 20 กิ่งปะการังที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็ม 10, 20 และ 30 psu ในขณะเริ่มต้นการทดลอง และชั่วโมงที่ 72 46

รูปที่ 21 กิ่งปะการังจากสถานีต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง 48

รูปที่ 22 เซลล์ซูแซนเทลลีในมวลน้ำ ซึ่งพบที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ความเค็ม 10 psu..50

รูปที่ 23 ปะการังจากสถานี A เขาหมาจอ ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเค็ม 3 ระดับ ได้แก่ ก) ความเค็มควบคุม 30 psu ข) ความเค็ม 20 psu และ ค) ความเค็มต่ำที่สุด 10 psu 51

รูปที่ 24 กิ่งปะการังจากสถานี B เกาะปลาหมึก ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเค็ม 3 ระดับได้แก่ ก) ความเค็มควบคุม 30 psu ข) ความเค็ม 20 psu และ ค) ความเค็มต่ำที่สุด 10 psu 52

รูปที่ 25 กิ่งปะการังจากสถานี C จุดดำน้ำหาดเทียน ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเค็ม 3 ระดับ ได้แก่ ก) ความเค็มควบคุม 30 psu ข) ความเค็ม 20 psu และ ค) ความเค็ม 10 psu ..... .53

รูปที่ 26 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีในมวลน้ำที่ระดับอุณหภูมิสูง (30 และ 33 องศาเซลเซียส) ภายใต้ระดับความเค็ม 10, 20 และ 30 psu ตามลำดับ 54

รูปที่ 27 กิ่งปะการังในชุดการทดลองที่ 1 ตู้ A (ควบคุม) ไม่มีการให้ซูแซนเทลลี ตั้งแต่เริ่มการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง 56

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 28 กิ่งปะการังในชุดการทดลองที่ 1 ตู้ B ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ (ปรับตัวที่ 33 องศาเซลเซียส) ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง..... 57

รูปที่ 29 ปะการังในชุดการทดลองที่ 1 ตู้ C ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ 58

รูปที่ 30 ปะการังในชุดการทดลองที่ 1 ตู้ D ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง 59

รูปที่ 31 ปะการังในชุดการทดลองที่ 2 ตู้ A (ควบคุม) ไม่มีการให้ซูแซนเทลลี ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง..... 61

รูปที่ 32 กิ่งปะการังในชุดการทดลองที่ 2 ตู้ B ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ (ปรับตัวที่ 33 องศาเซลเซียส) ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง 62

รูปที่ 33 กิ่งปะการังในชุดการทดลองที่ 2 ตู้ C ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง..... 63

รูปที่ 34 ปะการังในชุดการทดลองที่ 2 ตู้ D ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง 64

รูปที่ 35 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีในมวลน้ำหลังมีการให้ซูแซนเทลลี ในตู้ B, C และ D ของ ก). ชุดการทดลองที่ 1 และ ข). ชุดการทดลองที่ 2 สุ่มนับทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 65

รูปที่ 36 แผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างซูแซนเทลลีในกิ่งปะการัง 66

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

ซูแซนเทลลี (zooxanthellae) เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว มีสีน้ำตาลอมเหลือง ร่วมอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อปะการัง และสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด เช่น ดอกไม้ทะเล และหอยมือเสือ เป็นต้น ทำหน้าที่นำคาร์บอนไดออกไซด์และธาตุอาหารจากกระบวนการเมทาบอลิซึมจากผู้ให้อาศัยมาใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง ได้ผลผลิตเป็นออกซิเจนและสารอาหาร ส่งกลับคืนให้ผู้ให้อาศัย โดยเฉพาะในปะการังพบว่าได้รับสารอาหารและพลังงานจากซูแซนเทลลีมากกว่าร้อยละ 86 ของสารอาหารและพลังงานที่ปะการังต้องการ

ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว (Coral Bleaching) เกิดขึ้นเมื่อสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น อุณหภูมิน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้น หรือ ความเค็มของน้ำทะเลลดต่ำลง เป็นต้น ส่งผลให้เซลล์ซูแซนเทลลีสร้าง Reactive Oxygen Species (ROS) เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์และกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ทำให้ปริมาณของรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงลดต่ำลง เซลล์ซูแซนเทลลีเสียหาย ตาย หรือถูกปะการังขับออกด้วยกลไก exocytosis เป็นสาเหตุให้ปะการังมีสีจางลง อันเนื่องมาจากความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลีภายในเนื้อเยื่อลดต่ำลง ปะการังอ่อนแอเนื่องจากไม่ได้รับสารอาหารที่เพียงพอ และอาจตายหากไม่สามารถทนต่อสภาวะนี้ได้ ปัจจุบันปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวมีความถี่และรุนแรงมากขึ้น และพบเป็นบริเวณกว้าง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ

Chulalongkorn University

เมื่อเกิดการฟอกขาว ผู้ให้อาศัยเต็มวัยที่ฟอกขาวสามารถรับซูแซนเทลลีกลับเข้ามาเพื่อฟื้นตัวเองจากการฟอกขาวได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของซูแซนเทลลีในมวลน้ำ และอัตราการเกิดเป็น symbiosis ของปะการังและซูแซนเทลลี หากสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปไม่มาก ซูแซนเทลลีที่พบในเนื้อเยื่อของผู้ให้อาศัยหลังจากการฟื้นตัว มักจะเป็นชนิดเดียวกันกับที่พบก่อนฟอกขาว แต่หากสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรง ปะการังอาจรับซูแซนเทลลีจากแหล่งอื่น ในบางกรณีอาจรับซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยต่างชนิดเพื่อใช้ในการฟื้นตัว เนื่องจาก ซูแซนเทลลีมีความหลากหลายสูง แต่ละสายพันธุ์จะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปแตกต่างกัน นอกจากนี้การฟอกขาวจะค่อยๆเกิดเป็นบริเวณ ไม่ได้เกิด

ฟอกขาวพร้อมกันทั้งก้อนปะการังในครั้งเดียว แสดงให้เห็นว่า ซูแซนเทลลีที่ร่วมอาศัยในปะการังน่าจะมีหลายสายพันธุ์ ซึ่งมีความสามารถในการทนต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างกัน โดยชนิดที่ ทนการเปลี่ยนแปลงได้น้อยจะถูกขับออกไปก่อน จึงเป็นที่มาในการคัดเลือกซูแซนเทลลีที่สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยสิ่งแวดล้อมได้ในช่วงกว้าง เพื่อนำไปใช้ในการฟื้นตัวหรือลดผลกระทบจากการฟอกขาวของปะการัง

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีสมมติฐานว่า ซูแซนเทลลีที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยสิ่งแวดล้อมสามารถช่วยในการฟื้นตัวของปะการังฟอกขาวได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี
2. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ
3. ใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ

ขอบเขตการศึกษา

1. ปะการังที่ใช้ในการศึกษานี้ คือปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*
2. ซูแซนเทลลีที่ใช้ในการศึกษา เป็นซูแซนเทลลีที่แยกและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ สกุล *Durusdinium* spp. (D1)
3. ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

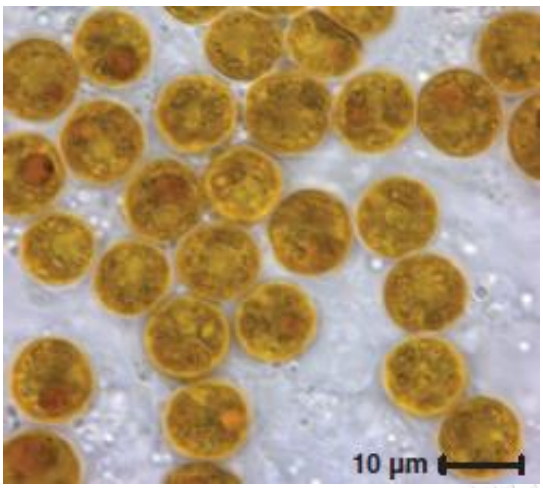
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

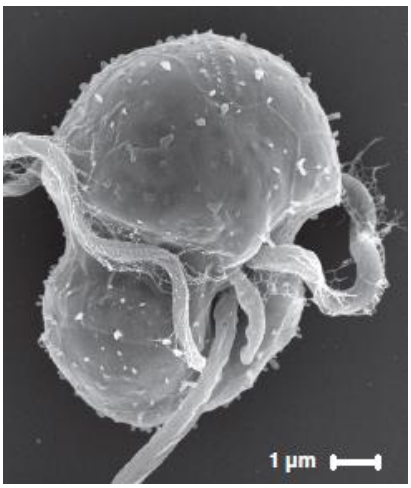
บทที่ 2
สำรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ซูแซนเทลลี (zooxanthellae)

ซูแซนเทลลี (zooxanthellae) เป็นแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลต ลักษณะเซลล์กลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6-15 ไมโครเมตร มีสีน้ำตาลอมเหลือง (รูปที่ 1) เซลล์ซูแซนเทลลีในธรรมชาติพบได้ 2 สถานภาพ คือเซลล์ที่เคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagella (gymnodinoid form) และ เซลล์ที่ไม่เคลื่อนที่ (coccoid form) (รูปที่ 2) สามารถเพิ่มจำนวนประชากรโดยการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) สำหรับเซลล์ซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อผู้ให้อาศัยจะพบอยู่ในสภาพ coccoid form เท่านั้น และมีโครงสร้างผนังเซลล์แตกต่างจากสภาพ gymnodinoid form เล็กน้อย เมื่อนำเซลล์มาเพาะเลี้ยง เซลล์จะมีการเคลื่อนที่เป็นกลุ่มก้อน (Wakefield, Farmer, and Kempf 2000)นอกจากนี้ พบว่า เซลล์ที่อยู่ในสภาพ gymnodinoid มี eyespot ซึ่งประกอบด้วย crystalline หลายชั้น โดย eyespot มีส่วนช่วยในการเบนรังสียูวีและแสงสีเขียวได้ (Yamashita and Koike 2015)

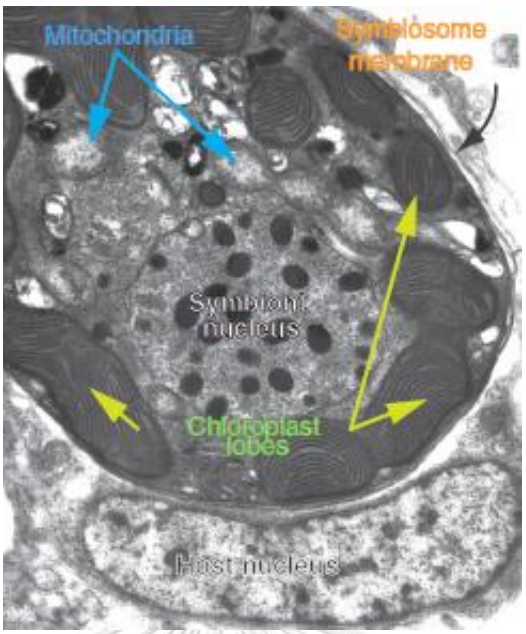
รูปที่ 1 เซลล์ซูแซนเทลลี (zooxanthellae) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora daimicornis* ในห้องปฏิบัติการ





รูปที่ 2 เซลล์ซูแซนเทลลี coccoid form (ซ้ายมือ) เซลล์กลมไม่เคลื่อนที่ และเซลล์ซูแซนเทลลีแบบ gymnodinoid form (ขวามือ) เซลล์เคลื่อนที่โดยใช้ flagella (LaJeunesse 2020)

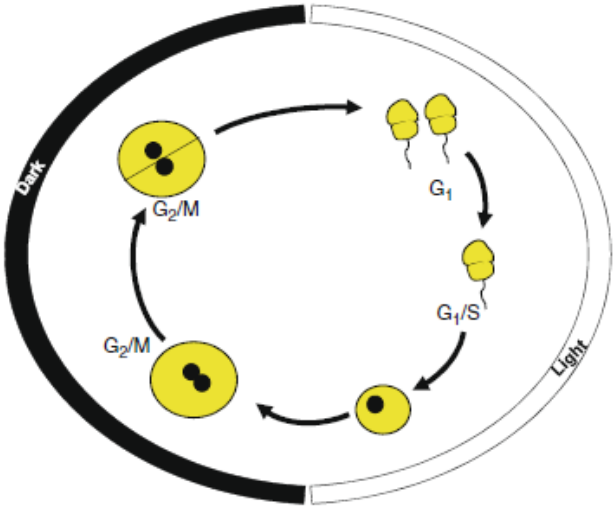
เซลล์ซูแซนเทลลีล้อมรอบด้วยผนังเซลล์แบบ continuous cellulosic ภายในเซลล์มีคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ซึ่งภายในมีไทลาคอยด์ (thylakoids) เรียงซ้อนเป็นชั้นและมักจะเรียงตัวอยู่ใกล้ส่วนนอกสุดของเซลล์ ติดกับคลอโรพลาสต์พบไพรีนอยด์ (pyrenoid body) ซึ่งทำหน้าที่เก็บผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ภายในเซลล์มีผลึกยูริก โดยใช้เป็นแหล่งสำรองไนโตรเจน ทำให้สาหร่ายสามารถเติบโตได้ แม้ว่าจะอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีไนโตรเจนต่ำก็ตาม (CLODE et al. 2009) ภายในนิวเคลียสมีโครโมโซมที่อัดตัวแน่น และมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 26-97 โครโมโซม โดยแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิด โดยเซลล์แต่ละเซลล์มีปริมาณ DNA อยู่ระหว่าง 1.5 - 4.8 pg (LaJeunesse 2005) ซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของผู้ให้อาศัยจะอยู่ภายใน Symbiosome vacuole ซึ่งแยกออกจากเยื่อหุ้มเซลล์ของผู้ให้อาศัย (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 องค์ประกอบภายในเซลล์ซูแซนเทลลี ที่อาศัยอยู่ภายใน Symbiosome vacuole ของผู้ให้อาศัย และอยู่ใกล้กับนิวเคลียสของผู้ให้อาศัย (LaJeunesse 2020)

วัฏจักรเซลล์

เซลล์ซูแซนเทลลีทั้งที่อาศัยอยู่ในผู้ให้อาศัยตามธรรมชาติและในการเพาะเลี้ยงจะมีโครโมโซม 1 ชุด (haploid) เท่านั้น วัฏจักรเซลล์ปกติเริ่มจากระยะ G_1 ไปสู่ระยะ S และหลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะ G_2/M ภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งระยะ G_1, S และ G_2 เป็นระยะย่อยในระยะอินเตอร์เฟส โดยในระยะ G_1 เซลล์เจริญเติบโต โดยมีการสร้างโปรตีนและส่วนประกอบต่างๆของเซลล์และออร์แกเนลล์ ระยะ S เซลล์เจริญเติบโตมากขึ้น มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ระยะ G_2 เซลล์เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมสำหรับการแบ่งเซลล์ เมื่อเสร็จสิ้นระยะ G_2 ก็จะเข้าสู่ระยะไมโทซิส (ระยะ M) (รูปที่ 4) วัฏจักรเซลล์ปกตินี้จะเกิดขึ้นเมื่อได้รับการกระตุ้นจากช่วงมืดและช่วงสว่างที่เหมาะสม โดยช่วงมืด: สว่าง ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเติบโตของซูแซนเทลลี คือ 12: 12 ชั่วโมง



รูปที่ 4 วัฏจักรเซลล์ของซูแซนเทลลี ระหว่างช่วงมืดและช่วงสว่าง ระยะ G_1, G_1/S และ G_2/M (Stambler 2011)

แสงเป็นปัจจัยสำคัญเพื่อให้เซลล์เติบโตและเข้าสู่ระยะที่มีการสังเคราะห์ DNA (ระยะ G_1 เข้าสู่ระยะ S และเข้าสู่ระยะ G_2/M) เพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง ยับยั้งการสังเคราะห์แสง และหยุดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ในทางตรงกันข้าม ความมืดจะทำให้เซลล์เข้าสู่ระยะการแบ่งตัวแบบไมโทซิส ในขณะที่เซลล์จะเปลี่ยนจากระยะ G_2/M เป็นระยะ G_1 (Wang et al. 2008)

ในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (The doubling times) ของซูแซนเทลลีที่เพาะเลี้ยงจะใช้เวลาไม่นาน แต่หากซูแซนเทลลีอาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อของในผู้ให้อาศัย จะใช้ระยะเวลาหลายวัน (Wilkerson, Kobayashi, and Muscatine 1988) ซึ่งหากธาตุอาหารไม่เพียงพอ จะใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าประมาณ 8 วัน (DUBINSKy and JOKIEL 1994)

สายพันธุ์ซูแซนเทลลี

การจัดจำแนกสายพันธุ์ของซูแซนเทลลีในปัจจุบัน ถูกจัดให้อยู่ในวงศ์ Symbiodiniaceae ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง จากเดิมถูกจัดแบ่งเป็น clade แต่ในปัจจุบันได้ยกให้ clade เทียบเท่ากับระดับสกุล โดยสกุลที่พบได้ทั่วไปในปะการังแข็ง ได้แก่ สกุล *Symbiodinium* (clade A), *Breviolum* (clade B), *Cladocopium* (clade C) และ *Durusdinium* (clade D) สำหรับซูแซนเทลลีที่อาจพบได้ในปะการังแข็ง ได้แก่ สกุล *Fugacium* (clade F) และ *Gerakladium* (clade G) (คงจันทร์ตรี, เสนานาญ, and จันทร์ประสาทสุข 2560)

การศึกษาในประเทศไทย บริเวณหมู่เกาะภูเก็ต พบสาหร่ายซูแซนเทลลีส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Cladocopium* (clade C) รองลงมาคือสกุล *Durusdinium* (clade D) และยังพบสกุล *Durusdinium* (clade A), *Fugacium* (clade F) และ *Gerakladium* (clade G) ซึ่งซูแซนเทลลีในแต่ละสายพันธุ์จะมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมแตกต่างกันออกไป (LaJeunesse et al. 2010)

สำหรับแนวปะการังบริเวณจังหวัดชลบุรีและระยอง พบซูแซนเทลลีในสกุล *Durusdinium* spp. (D1) มากที่สุดในปะการังทุกชนิด และพบว่าซูแซนเทลลีสกุล *Cladocopium* sp. (C15) ค่อนข้างเฉพาะเจาะจงกับปะการังโขด *Porites* sp. สำหรับซูแซนเทลลีสกุล *Durusdinium* sp. (D1-6) ค่อนข้างเฉพาะเจาะจงกับปะการัง *Pocillopora* sp. ในขณะที่ปะการัง Platygyra ในสถานีหมู่เกาะแสมสารพบซูแซนเทลลีสกุล *Cladocopium* sp. (C3u) เป็นองค์ประกอบหลักซึ่งแตกต่างจากสถานีหินเพิง และหมู่เกาะสีชังที่พบสกุล *Durusdinium* spp. (D1) เป็นองค์ประกอบหลัก (คงจันทร์ตรี, เสนานาญ, and จันทร์ประสาทสุข 2560)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. ความสัมพันธ์ของซูแซนเทลลีและผู้ให้อาศัย

สัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังหลายชนิด เช่น ปะการัง ดอกไม้ทะเล และ หอยมือเสือ มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกับซูแซนเทลลี ซึ่งเป็นสาหร่ายเซลล์เดียว อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อชั้นแกสโตรโดรมิส (Gastrodermis) ของผู้ให้อาศัย เซลล์ซูแซนเทลลีแบ่งตัวและแยกจากไซโทพลาสซึม (cytoplasm) ของผู้ให้อาศัย โดยมีเยื่อหุ้มบริเวณโดยรอบที่เชื่อมต่อกัน เรียกว่า Symbiosome ยกเว้นในหอยมือเสือ ซูแซนเทลลีอาศัยอยู่ภายในส่วนที่เรียกว่า zooxanthellal tube (เป็นท่อที่เกิดขึ้นจากกระเพาะอาหารส่งต่อไปยังเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิล)

การเกิดภาวะพึ่งพาอาศัยของซูแซนเทลลีและผู้ให้อาศัย หากย้อนกลับไปในอดีตพบว่ามีวิวัฒนาการมากว่า 200 ล้านปี การเกิดแนวปะการังสมัยใหม่เริ่มต้นตั้งแต่ในมหายุคมีโซโซอิก และมีการปรับตัวตลอดเวลา ทำให้แนวปะการังในปัจจุบันมีความหลากหลายและกระจายตัวอยู่ได้ในพื้นที่อบอุ่น (รูปที่ 5) การเกิดภาวะพึ่งพาอาศัยนี้ สามารถเกิดได้ 2 แบบ ได้แก่ ผู้ให้อาศัยรับซูแซนเทลลีโดยตรงจากแม่ผ่านทางไข่ และ ที่พบได้โดยทั่วไป คือ ผู้ให้อาศัยรับซูแซนเทลลีมาจากมวลน้ำ โดยปะการังมากกว่า 80% รับซูแซนเทลลีจากมวลน้ำ ซูแซนเทลลีรุ่นใหม่ที่ได้จากมวลน้ำ ช่วยให้ปะการังสามารถปรับตัวกับสภาพแวดล้อมในบริเวณนั้นได้ เช่น ปะการังเขากวางในระยะตัวอ่อน และในระยะตัวเต็มวัย พบซูแซนเทลลีแตกต่างกัน ซึ่งในระยะตัวเต็มวัย ได้รับซูแซนเทลลีจากมวลน้ำ เพื่อปรับตัวกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป (Yamashita and Koike 2015)

รูปที่ 5 ความหลากหลายของปะการังในแนวปะการังบริเวณชายฝั่ง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความหลากหลายของซูแซนเทลลี (LaJeunesse 2020)

ความสำคัญของซูแซนเทลลีต่อปะการังและผู้ให้อาศัยชนิดอื่น

ซูแซนเทลลีสังเคราะห์แสงได้ผลผลิตเป็นออกซิเจนและสารอาหารโมเลกุลเล็ก เช่น กลีเซอรอล และกลูโคส เป็นต้น ส่วนหนึ่งจะถูกส่งกลับไปยังผู้ให้อาศัย โดยผู้ให้อาศัยแต่ละชนิด มีสัดส่วนการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์จากการสังเคราะห์แสงเหล่านี้แตกต่างกันไป เช่น ปะการังได้รับพลังงานจากซูแซนเทลลีมากถึง 86% ในขณะที่หอยมือเสือได้รับพลังงานจากซูแซนเทลลีประมาณ 50% เป็นต้น

การศึกษาโดยส่วนใหญ่ พบว่า สารประกอบอินทรีย์ซึ่งถูกสร้างขึ้นโดยซูแซนเทลลีประมาณ 20-50 ชนิด เช่น กลูโคส กรดอะมิโน เป็นต้น ถูกส่งต่อเพื่อเป็นพลังงานหลักให้กับผู้ให้อาศัยใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ เช่น การเจริญของเนื้อเยื่อ และการสร้างโครงร่างแคลเซียมคาร์บอเนตของปะการังแข็ง ดังนั้นซูแซนเทลลีจึงมีความสำคัญเป็นอย่างมากสำหรับการสร้างแนวปะการังขนาดใหญ่ (LaJeunesse 2020)

พื้นที่ผิวปะการัง 1 ตารางเซนติเมตรจะพบซูแซนเทลลีนับล้านเซลล์ และความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลีในเนื้อเยื่อของผู้ให้อาศัยจะแตกต่างกันไปตามชนิดของผู้ให้อาศัย และสายพันธุ์ของซูแซนเทลลี ผู้ให้อาศัยบางชนิด เช่น ปะการัง *Stylophora pistillata* มีจำนวนซูแซนเทลลีต่อพื้นที่น้อยมาก ในขณะที่ดอกไม้ทะเล *Condylactis gigantean* มีจำนวนซูแซนเทลลีต่อพื้นที่สูง (Muscatine et al. 1989) นอกจากนี้ความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลีแปรผันตามปริมาณอาหารที่ได้รับ ในปะการังที่ได้รับธาตุอาหารเหมาะสมจะมีจำนวนเซลล์ต่อพื้นที่มากกว่าปะการังที่อดอาหาร (Houlbrèque et al. 2004) และพบความหนาแน่นเซลล์ต่ำที่สุดเมื่อเกิดปรากฏการณ์ฟอกขาว และในกรณีที่ผู้ให้อาศัยสามารถรอดชีวิตจากการฟอกขาวได้ อาจมีการรับเซลล์เพิ่มเข้ามา (Inoculum) เพื่อเริ่มต้นประชากรใหม่ได้ (Stambler 2011)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3. ปะการังดอกกะหล่ำ Pocillopora damicornis

ปะการังเป็นสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งมีหินปูนเป็นโครงร่างแข็ง โดยเป็นส่วนที่รองรับเนื้อเยื่อตัวปะการัง ซึ่งมีรูปทรงเป็นทรงกระบอกเล็กๆ และที่ปลายกระบอกจะมีหนวดที่คอยโบกสะบัดเพื่อจับอาหารที่เป็นแพลงก์ตอนในน้ำ อาหารที่ปะการังใช้ในการดำรงชีพส่วนหนึ่งมาจากสารอาหารที่สาหร่ายซูแซนเทลลีสร้างขึ้น

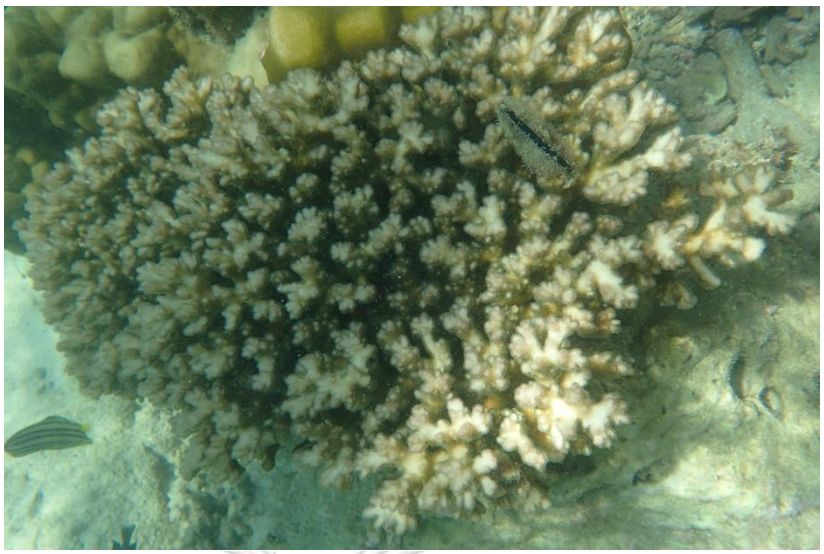
ช่องที่เป็นที่ฝังตัวของตัวปะการัง อาจมีขนาดเพียง 1 มิลลิเมตร ไปจนถึงขนาด 2-3 เซนติเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปะการัง ลักษณะช่องอาจจะเป็นช่องกลม รี เหลี่ยม หรืออาจเป็นร่องยาวก็ได้ เป็นที่อยู่ของปะการังแต่ละตัวหรือหลายตัวได้ในกรณีที่เป็นร่องยาว

ในปะการังหนึ่งก้อน หนึ่งกอ หรือหนึ่งแผ่น ประกอบด้วยตัวปะการังจำนวนมาก โดยมีเนื้อเยื่อเชื่อมติดกัน โดยส่วนใหญ่ปะการังอยู่กันเป็นกลุ่ม (colony) ตัวปะการังจำนวนมากประกอบขึ้นมาเป็นกลุ่มก้อน เป็นผลมาจากการเจริญเติบโตของปะการัง แต่มีปะการังอีกประเภทหนึ่งซึ่งมีน้อยชนิด ที่ในหนึ่งก้อนประกอบขึ้นด้วยตัวปะการังเพียงตัวเดียว เป็นปะการังประเภท อยู่แบบเดี่ยว (solitary) เช่น ปะการังดอกเห็ด (Mushroom coral)

สำหรับกลุ่มปะการังดอกกะหล่ำ หรือที่ชาวประมงเรียกว่า ปะการังแมว (รูปที่ 6) พบกระจายเป็นวงกว้างบริเวณเขตน้ำขึ้นลง ในน่านน้ำไทยทั้งฝั่งอ่าวไทย และอันดามัน คอรอมลัม (Corallum) ของปะการังชนิดนี้มีลักษณะเป็นช่อที่แตกกิ่งก้านออกมาจากศูนย์กลาง คล้ายดอกกะหล่ำตรงปลายของแต่ละกิ่งก้านแผ่แบบขยายออก ผนังที่แบ่งกั้นคอรอลไลท์ (Corallite) บางกว่าปะการังพุ่มไม้ ขนาดของช่อ กว้างประมาณ 12 เซนติเมตร

Chulalongkorn University

ปะการังดอกกะหล่ำ มีรูปแบบการสืบพันธุ์เช่นเดียวกับปะการังโดยทั่วไป สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ซึ่งรูปแบบการสืบพันธุ์นั้นจะแตกต่างกันไปตามชนิดและสภาพแวดล้อมในพื้นที่ สำหรับปะการังดอกกะหล่ำในพื้นที่เกาะแสมสาร จ.ชลบุรี มีการทดแทนประชากรจากการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศควบคู่กันไป (รัตนะวงวาล 2557)



รูปที่ 6 ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* บริเวณจุดดำน้ำหาดเทียน เกาะแสมสาร (ถ่ายโดย นางสาวนันทภัค โพธิสาร)

4. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อซูแซนเทลลีและปะการัง

เมื่อน้ำทะเลเปลี่ยนแปลงไปในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้น ความเข้มแสงสูงขึ้น ความเค็มลดต่ำลง ตะกอน ธาตุอาหาร หรือเกิดจากปัจจัยต่างๆหลายปัจจัยรวมกัน ปัจจัยต่างๆเหล่านี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิน้ำทะเลที่เพิ่มสูงขึ้นจะกระตุ้นการตอบสนองทางสรีรวิทยาของปะการังและซูแซนเทลลี ทำให้เกิดความเครียด โดยซูแซนเทลลีจะปรับเปลี่ยนโครงสร้างภายในเซลล์ เช่น การหดตัวขององค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์ เกิดช่องว่างภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น การทำงานขององค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์ไม่ปกติ รวมไปถึงการคลายตัวของไทลาคอยด์ เป็นต้น (Houlbrèque et al. 2004) และปะการังตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปนี้โดยลดความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลีภายในเนื้อเยื่อ โดยเลือกปล่อยซูแซนเทลลีบางสกุล หรือย่อยทำลายเซลล์ซูแซนเทลลี โดยที่ระดับอุณหภูมิสูง (30 องศาเซลเซียส)

สำหรับกลไกที่ซูแซนเทลลีหลุดออกจากผู้ให้อาศัยมี 5 กลไกหลัก ได้แก่ Exocytosis (เซลล์ซูแซนเทลลีถูกขับออกจากเนื้อเยื่อชั้นเอนโดเดิร์มของผู้ให้อาศัย) Apoptosis (เซลล์ซูแซนเทลลีตายโดยปกติตามธรรมชาติ) Necrosis (เซลล์ซูแซนเทลลีหลุดออกจากผู้ให้อาศัย โดยมีชิ้นส่วนของผู้ให้อาศัยหลุดออกไปด้วย) Pinching off (เซลล์ซูแซนเทลลีหลุดออกจากผู้ให้อาศัย โดยมีเยื่อหุ้มที่ล้อมรอบเซลล์หลุดออกไปด้วย) และ Host cell detachment (เซลล์ซูแซนเทลลีที่หลุดออกจากผู้ให้

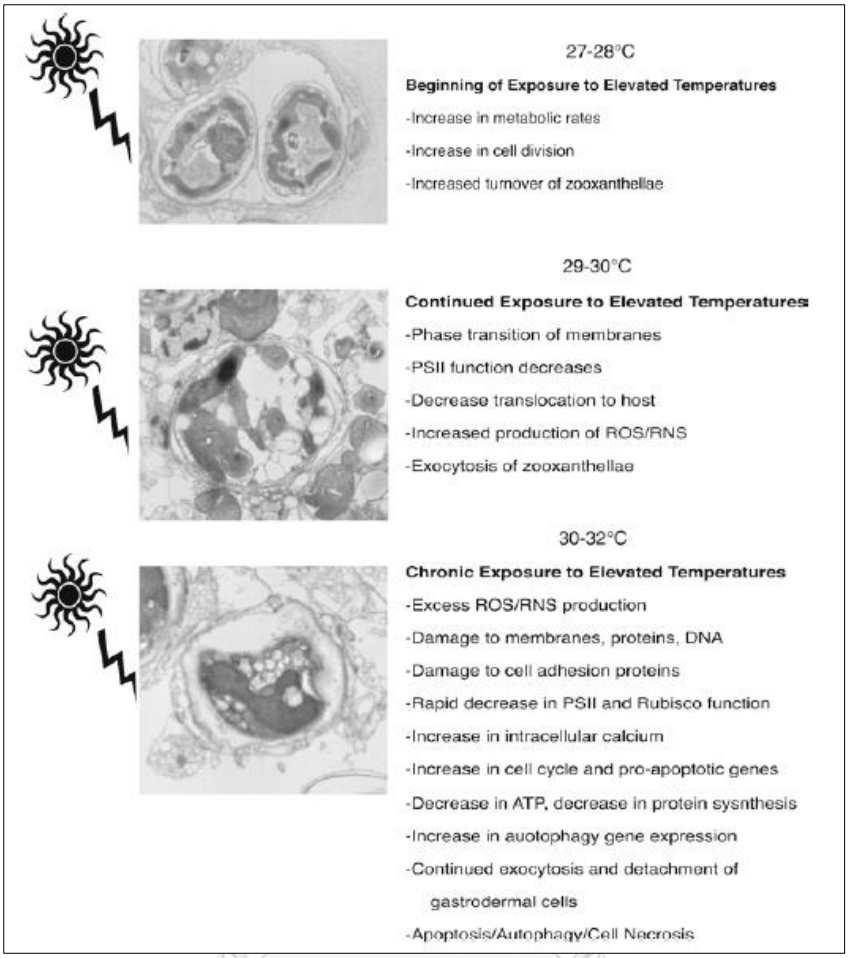
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อาศัยไม่เสียหาย โดยมีองค์ประกอบต่างๆ ครบสมบูรณ์) (Rodolfo-Metalpa et al. 2006) จากการศึกษาส่วนใหญ่พบว่า ปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปจนไม่เหมาะสมนั้นส่งผลให้เซลล์ซูแซนเทลลีเกิด Oxidative stress ทำให้เซลล์ซูแซนเทลลีตาย (Apoptosis) หรือปะการังขับซูแซนเทลลีออกด้วยกลไก exocytosis โดยเมื่อเซลล์ซูแซนเทลลีอยู่ภายใต้อุณหภูมิสูงในระยะแรกมีการเพิ่มอัตราการเผาผลาญพลังงานและแบ่งเซลล์ เมื่ออยู่ภายใต้ระดับอุณหภูมิสูงต่อเนื่อง เซลล์จะสร้าง Reactive Oxygen Species (ROS) เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และระบบแสง 2 และเมื่ออยู่ที่ระดับอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานาน พบว่าลิพิด โปรตีน และ DNA ถูกทำลาย เซลล์เสียหาย ส่งผลให้เซลล์ตายหรือถูกขับออกจากปะการัง (รูปที่ 7) (Lesser 2010)

ปะการังเขากวางมีการขับเซลล์ซูแซนเทลลีที่เสียหายออกมาในมวลน้ำสูงขึ้น 30% เมื่อเปรียบเทียบกับกลไกการขับเซลล์ออกจากเนื้อเยื่อในสภาวะปกติเพื่อรักษาสมดุล (Fujise et al. 2014) และหากอุณหภูมิน้ำทะเลเพิ่มสูงถึง 34 องศาเซลเซียส เซลล์ซูแซนเทลลีจะตายโดยมีขนาดเล็กลง องค์ประกอบภายในเซลล์จะหดตัวและรวมเข้าด้วยกัน หลังจากนั้นเยื่อหุ้มเซลล์จะแตกออก (Strychara and Sammarco 2009)

ความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลีในเนื้อเยื่อผู้ให้อาศัยแปรผกผันกับอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น จากการศึกษาความผันผวนของเซลล์ซูแซนเทลลีในรอบปี หลายการศึกษาต่างพบว่า ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลีในเนื้อเยื่อปะการัง มีความหนาแน่นต่ำในช่วงฤดูร้อน เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ความทนทานของซูแซนเทลลีลดต่ำลง อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้รงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงลดต่ำลง และจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส (Rodolfo-Metalpa et al. 2006) แม้ว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อซูแซนเทลลีและผู้ให้อาศัยก็ตาม แต่ความเค็มต่ำเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อทั้งซูแซนเทลลีและผู้ให้อาศัย แม้พบได้น้อยกว่าอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากความเค็มต่ำส่งผลทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีลดต่ำลง (SAKAMI 2000) ซูแซนเทลลีในปะการัง *Stylophora pistillata* จะอ่อนไหวต่อความเค็มที่เปลี่ยนแปลงไปแม้ในช่วงแคบ เนื่องจากความเค็มที่ต่ำลงทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดต่ำลงถึง 50% (Ferrier-Pagès, Gattuso2, and Jaubert1 1999)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 7 กลไกของเซลล์ซูแซนเทลลีที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง โดยเมื่อเซลล์ซูแซนเทลลีอยู่ภายใต้อุณหภูมิสูงในระยะแรก มีการเพิ่มอัตราการเผาผลาญพลังงานและแบ่งเซลล์ เมื่ออยู่ภายใต้ระดับอุณหภูมิสูงต่อเนื่อง เซลล์สร้าง Reactive Oxygen Species (ROS) เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และระบบแสง 2 และเมื่ออยู่ที่ระดับอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานาน พบว่าลิพิด โปรตีน และ DNA ถูกทำลาย เซลล์เสียหาย ส่งผลให้เซลล์ตายหรือถูกขับออกจากปะการัง (Lesser 2010)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เมื่อปะการังขับซูแซนเทลลีออกจากเนื้อเยื่อเป็นจำนวนมาก ทำให้ความหนาแน่นซูแซนเทลลีลดน้อยลง ทำให้มองเห็นโครงร่างสีขาวของปะการัง เรียกว่า ปะการังฟอกขาว (Coral Bleaching) (รูปที่ 8) หากปะการังต้องทนอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปนี้เป็นเวลานาน ปะการังจะขาดธาตุอาหารและในที่สุดปะการังอาจตายได้

รูปที่ 8 ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ฟอกขาว บริเวณเกาะแสมสาร (ถ่ายโดย นาวาโทพุทธิพิพัฒน์ ศรีจันทร์บุญ)

ในปัจจุบันปรากฏการณ์ฟอกขาวมีความถี่และรุนแรงมากขึ้นในวงกว้าง เนื่องด้วยการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของโลก เมื่อการฟอกขาวมีความรุนแรงขึ้นทำให้ปะการังตายเป็นจำนวนมาก ปะการังเขากวาง *Acropora millepora* บริเวณชายฝั่งออสเตรเลีย ฟอกขาวและตายมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส แม้ว่าจะมีซูแซนเทลลีสกุล *Durusdinium* (clade D) ซึ่งถือว่าทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมมากที่สุดก็ตาม (Berkelmans and Oppen 2006) สำหรับในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2553 เป็นปีที่พบแนวปะการังเสียหายมากที่สุดเป็นประวัติการณ์ เกิดจากอุณภูมิน้ำทะเลที่เริ่มสูงขึ้นจากปกติ 29 องศาเซลเซียส ได้เริ่มสูงขึ้นเป็น 30 องศาเซลเซียสตอนปลายเดือนมีนาคม เป็นเวลาสามสัปดาห์ ส่งผลให้เกิดสภาวะปะการังฟอกขาวเป็นพื้นที่กว้างทั้งทะเลฝั่งอันดามันและอ่าวไทย (ทองแถม and พงศ์สุวรรณ 2553) จากการรายงานผลกระทบของปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวต่อแนวปะการัง จ.ตราด ปี 2553 โดยศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยฝั่งตะวันตก พบว่า ปะการังชนิดเด่นที่แสดงการฟอกขาวรุนแรง ได้แก่ ปะการังในกลุ่มปะการังเขากวาง (Acroporidae) ปะการังดอกกะหล่ำ (*Pocillopora damicornis*) และปะการังโขด (*Porites lutea*)

หลังจากเหตุการณ์ปะการังฟอกขาวครั้งใหญ่ในปี พ.ศ. 2553 พบว่าในแต่ละปี พบปะการังมีสีจางลง หรือพบการฟอกขาวหลายบริเวณในช่วงฤดูร้อน สำหรับปีปัจจุบัน ในช่วงต้นเดือนเมษายน พ.ศ. 2563 กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งรายงานว่า ทะเลฝั่งอ่าวไทยมีอุณหภูมิของน้ำทะเลเพิ่มขึ้น อุณหภูมิน้ำทะเลเฉลี่ย 31.98 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิเฉลี่ยเดือนมีนาคม 30.7 องศาเซลเซียส) พบปะการังเริ่มมีสีจางลงในบางพื้นที่โดยเฉพาะแนวปะการังชายฝั่งจังหวัดชุมพร สำหรับทะเลฝั่งอันดามัน อุณหภูมิน้ำทะเลเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ยังไม่มีรายงานการเกิดปะการังฟอกขาว เนื่องจากในช่วงเวลาดังกล่าวมีฝนตกในหลายพื้นที่ทำให้อาจช่วยบรรเทาสถานการณ์ปะการังฟอกขาวได้

นอกจากอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นแล้ว พบปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวจากระดับความเค็มของน้ำทะเลลดต่ำลง โดยผลกระทบจากเหตุการณ์อุทกภัยในปี พ.ศ. 2554 ทำให้ปะการังบริเวณเกาะค้างคาว จ.ชลบุรี เกิดฟอกขาว ซึ่งในขณะนั้นมีรายงานความเค็มที่ 11.08 psu

5. การปรับตัวของปะการังต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงและการฟื้นตัวจากการฟอกขาว

เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมจนไม่เหมาะสม สิ่งมีชีวิตมีการปรับตัวและตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันออกไป สำหรับผู้ให้อาศัยที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกับสาหร่ายซูแซนเทลลี การตอบสนองดังกล่าวจะขึ้นกับองค์ประกอบของซูแซนเทลลีภายในเนื้อเยื่อเป็นสำคัญ เช่น ประชากรปะการังที่มีซูแซนเทลลีชนิดเดียวกัน สาหร่ายซูแซนเทลลีมีการตอบสนองทางสรีรวิทยาและการเปลี่ยนแปลงทางพันธุศาสตร์ต่อปัจจัยอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นคล้ายกัน โดยแสดงให้เห็นถึงยีนที่พบในปัจจุบัน เช่น Msh4 Msh5 และ Spo11-2 สามารถใช้ตรวจจับความเครียดจากอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นในซูแซนเทลลีก่อนจะเกิดความเสียหายทางสรีรวิทยาได้ (Levin et al. 2016)

ประชากรปะการังที่เกิดใหม่จะเลือกซูแซนเทลลีที่มีความทนทานมากกว่าในการเริ่มต้นการอาศัยอยู่ร่วมกัน ประชากรปะการังเขากวาง *Acropora* sp. ที่เกิดใหม่และในมวลน้ำ ตะกอน รวมถึงปะการังที่โตเต็มวัย พบว่า มากกว่า 90% ของประชากรเกิดใหม่ มีความสัมพันธ์กับซูแซนเทลลีสกุล *Symbiodinium* และ *Durusdinium* และภายหลังลงเกาะ 6 เดือน พบว่า ซูแซนเทลลีภายในเนื้อเยื่อยังคงประกอบด้วยซูแซนเทลลีสกุล *Symbiodinium* และ *Durusdinium* เป็นหลัก แม้ว่าในน้ำทะเลโดยรอบจะพบซูแซนเทลลีสกุล *Cladocopium* มากกว่าก็ตาม เนื่องจากซูแซนเทลลีสกุล *Symbiodinium* และ *Durusdinium* สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้ในช่วงกว้าง และความทนทาน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ของซูแซนเทลลีนี้มีความสำคัญต่อการอยู่รอดของปะการังเขากวาง *Acropora* sp. (Yamashita et al. 2013)

เมื่ออยู่ภายใต้ความเครียด ปะการังมีกลไกที่ใช้จัดการสมดุลของซูแซนเทลลีซึ่งอาศัยอยู่ภายใน โดยปะการังจะย่อย และขับซูแซนเทลลีที่เสียหายออกจากเนื้อเยื่อ (Fujise et al. 2014) ในบางครั้ง ปะการังสามารถเลือกขับซูแซนเทลลีได้ โดยขับเพียงกลุ่มซูแซนเทลลีที่ไม่ต้องการออกเพื่อให้กลุ่มที่ต้องการ (ซึ่งทนทานมากกว่า) เป็นตัวเด่นในเนื้อเยื่อ เช่น ปะการัง *Pocillopora eydouxi* บางโคโลนีขับซูแซนเทลลีเฉพาะสกุล *Cladocopium* (clade C) ออกสู่มวลน้ำ หรือขับซูแซนเทลลีสกุล *Durusdinium* (clade D) ที่ทนทานกว่าออกมาด้วย แต่พบในปริมาณน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับ สกุล *Cladocopium* การทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า ปะการังสามารถเลือกขับซูแซนเทลลีออกจากเนื้อเยื่อได้ เพื่อให้ซูแซนเทลลีที่ทนทานกว่าเป็นชนิดเด่นในเนื้อเยื่อ (Yamashita et al. 2013) นอกจากนี้ จากการสำรวจแนวปะการังบริเวณอ่าว Palk มหาสมุทรอินเดีย พบว่าในช่วงเวลาก่อนเกิดฟอกขาวและภายหลังจากฟื้นตัวจากการฟอกขาวแล้ว ปะการังมีองค์ประกอบของซูแซนเทลลีที่เปลี่ยนไปอย่างชัดเจนในทุกกลุ่มของปะการังที่ศึกษา โดยช่วงก่อนเกิดการฟอกขาวพบซูแซนเทลลีสกุล *Cladocopium* (clade C) เป็นกลุ่มเด่น แต่ภายหลังจากการฟื้นตัวหลังการฟอกขาวแล้ว พบซูแซนเทลลีในสกุล *Durusdinium* (clade D) เป็นกลุ่มเด่น (Thinesh et al. 2019)

ในบางกรณี พบว่าปะการังไม่ได้ย่อยหรือขับซูแซนเทลลีออกจากเนื้อเยื่อแต่อย่างใด แต่มีการเคลื่อนย้ายซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่ภายใน เช่น การศึกษาการเคลื่อนย้ายของซูแซนเทลลีภายในปะการัง octocoral 3 ชนิด เมื่อภายใต้อุณหภูมิสูง (31.5-33.5 องศาเซลเซียส) พบว่า จำนวนของซูแซนเทลลีภายในเนื้อเยื่อปะการังลดน้อยลง และถูกขับออกมาภายนอกในปริมาณที่น้อย แต่กลับพบว่า ภายในระบบทางเดินอาหารพบซูแซนเทลลีเป็นจำนวนมาก ชี้ให้เห็นว่า ปะการังมีการเคลื่อนย้ายของซูแซนเทลลีจากเนื้อเยื่อไปที่ระบบทางเดินอาหาร เพื่อลดผลกระทบจากอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งกลไกนี้สามารถช่วยลดการฟอกขาวได้ (Parrin et al. 2016)

แต่หากปะการังหรือผู้ให้อาศัยชนิดอื่นไม่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปจนเกิดการฟอกขาว ผู้ให้อาศัยที่ฟอกขาวแล้ว สามารถเลือกรับซูแซนเทลลีในมวลน้ำ เพื่อสร้างประชากรใหม่ได้ โดยซูแซนเทลลีสายพันธ์เดียวกันสามารถสร้างประชากรใหม่ได้ดีกว่าซูแซนเทลลีต่างสายพันธุ์ (Weis et al. 2001) ดังเช่นการศึกษาของ (Kinzie et al. 2001) พบว่า ดอกไม้ทะเล *Aiptasia pulchella* ที่ฟอกขาวแล้ว สามารถรับซูแซนเทลลีเข้ามาใหม่ได้ แม้ว่าจะมีความเข้มข้นต่ำเพียงแค่ 10 เซลล์ต่อมิลลิลิตรก็ตาม นอกจากนี้ยังพบว่า ดอกไม้ทะเลที่ฟอกขาวนี้หากได้สัมผัสกับซูแซนเทลลีความเข้มข้นสูงจะสามารถรับซูแซนเทลลีได้เร็วกว่าสัมผัสกับซูแซนเทลลีที่มีความเข้มข้นต่ำ สอดคล้อง

กับ (Coffroth et al. 2010) ที่ได้ศึกษาความสามารถของปะการังในการรับซูแซนเทลลีจากสิ่งแวดล้อมภายนอก โดยการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่แสดงให้เห็นว่า ปะการัง *Porites divaricate* บางโคโลนี สามารถรับซูเทลลีจากมวลน้ำหลังเกิดการฟอกขาวได้ แต่การรับซูแซนเทลลีใหม่นี้เป็นเพียงชั่วคราวเท่านั้น อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าปะการังมีความสามารถในการปรับตัว และอาจจะเป็นความหวังที่ทำให้ปะการังอยู่รอดได้หากน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้นในอนาคต นอกเหนือจากนี้ การฟื้นตัวของผู้ให้อาศัยหลังการฟอกขาวขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของซูแซนเทลลีด้วย ซึ่งอาจใช้เวลาน้อยกว่า 5 วัน (Toller, Rowan, and Knowlton 2001)

สำหรับแนวปะการังในธรรมชาติ ปะการังฟอกขาวสามารถฟื้นตัวจากการฟอกขาว หรือลดความรุนแรงได้ เมื่ออุณหภูมิน้ำทะเลลดต่ำลง ด้วยเหตุปัจจัยต่างๆ ดังเช่น ในปี พ.ศ. 2561 พบปะการังฟอกขาวในช่วงเดือนเมษายน-พฤษภาคม เนื่องจากอุณหภูมิน้ำทะเลสูงในช่วงฤดูร้อน และการเกิดมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ล่าช้า จึงทำให้อุณหภูมิน้ำทะเลสูงอยู่นาน แต่การฟอกขาวไม่รุนแรง เนื่องจากในวันที่ 21 พฤษภาคม มวลน้ำที่มีอุณหภูมิสูงได้เคลื่อนตัวไปทางตอนบนของอ่าวเบงกอล จึงทำให้อุณหภูมิน้ำทะเลลดลง (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง 2561) และในปี พ.ศ. 2563 นี้ กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง ได้รายงานในเบื้องต้นว่า ในช่วงปลายเดือนเมษายน ซึ่งเป็นฤดูร้อน อุณหภูมิน้ำทะเลในพื้นที่ฝั่งอ่าวไทยมีแนวโน้มสูงขึ้น พบปะการังฟอกขาวระดับ 1 และมีสีจางลงในบริเวณชายฝั่งอ่าวไทย แต่สามารถปะการังฟื้นตัวกลับมาเป็นปกติเนื่องจากมีฝนตกและเมฆมาก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการศึกษา

1. พื้นที่ศึกษาและปัจจัยศึกษา

สถานีรอบเกาะแสมสาร 3 สถานี ได้แก่ เขาหมาจอ เกาะปลาหมึก และจุดดำน้ำหาดเทียน (รูปที่ 9) เกาะปลาหมึก เป็นเกาะขนาดเล็ก อยู่ทางตอนเหนือของเกาะแสมสาร เป็นเกาะที่มีโขดหินหรือกองหินขนาดใหญ่ มีพื้นที่เกาะประมาณ 200 ตารางเมตร มีปะการังหนาแน่นที่ระดับความลึก 1-6 เมตร ปะการังส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่ ปะการังดอกกะหล่ำ ปะการังเขากวาง และปะการังโขด ลักษณะพื้นท้องทะเลโดยส่วนใหญ่เป็นทราย

บริเวณเขาหมาจอ อยู่ทางตอนเหนือของเกาะแสมสาร พบแนวปะการังกระจายตัวตลอดแนว ห่างจากชายฝั่งประมาณ 50-150 เมตร ที่ระดับความลึก 1-5 เมตร ปะการังส่วนใหญ่ที่พบเป็นปะการังดอกกะหล่ำ และปะการังเขากวาง พื้นท้องทะเลเป็นดินปนทรายและแนวหินขนาดเล็ก

จุดดำน้ำหาดเทียน อยู่ทางตะวันออกของเกาะแสมสาร พบปะการังกระจายตัวที่ระดับความลึก 2-6 เมตร ปะการังส่วนใหญ่ที่พบเป็นปะการังดอกกะหล่ำ ปะการังอ่อน ปะการังเขากวาง และปะการังโขด พื้นท้องทะเลเป็นทรายรวมและแนวหินขนาดเล็ก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โดยทั้ง 3 สถานีมีพิกัดดังนี้

สถานี	ละติจูด	ลองจิจูด
1. สถานี A - เขาหมาจอ	12.5986	100.9465
2. สถานี B - เกาะปลาหมึก	12.5871	100.9438
3. สถานี C - จุดดำน้ำหาดเทียน	12.5688	100.9602

รูปที่ 9 สถานีศึกษา รอบเกาะแสมสาร อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี

จากการสำรวจพื้นที่บริเวณรอบเกาะแสมสาร อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี พบว่า ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* เป็นชนิดเด่นในพื้นที่ศึกษา จึงเลือกปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* เป็นตัวแทนในการศึกษาผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อปะการังฟอกขาว และการศึกษาการใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ

จากรายงานค่าเฉลี่ยอุณหภูมิน้ำทะเลอ่าวไทยตอนบนของกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง ในช่วงฤดูหนาว (ช่วงเวลาที่ศึกษา) พบว่ามีค่าเฉลี่ย 25.6 ± 1.52 องศาเซลเซียส และจากการทำการทดลองเบื้องต้น พบว่า ปะการังสามารถเติบโตได้ดีในห้องทดลองที่ระดับอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จึงได้เลือกอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิควบคุมของการศึกษา และศึกษาที่อุณหภูมิสูงอีก 2 ระดับ ได้แก่ 30 และ 33 องศาเซลเซียส ซึ่งจากการสำรวจของกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งในพื้นที่ศึกษาพบว่ามีรายงานพบปะการังฟอกขาวที่ระดับอุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสขึ้นไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากการวัดระดับความเค็มด้วย salinometer ในช่วงเวลเดียวกัน พบว่า ความเค็มในพื้นที่ที่ศึกษามีค่าเฉลี่ย 30±1 psu และจากการทำการทดลองเบื้องต้น พบว่า 30 psu เป็นความเค็มที่เหมาะสมต่อทั้งการเติบโตของซูแซนเทลลีและปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ จึงได้เลือกความเค็ม 30 psu เป็นความเค็มควบคุมของทั้ง 2 การทดลอง และได้เลือกความเค็มระดับต่ำอีก 2 ระดับ ได้แก่ 20 และ 10 psu สำหรับการศึกษาผลของความเค็มต่ำ

สำหรับการทดลองสุดท้าย การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ไม่ได้ศึกษาถึงระดับความเค็ม จึงใช้น้ำทะเลในพื้นที่ที่ศึกษาทำการทดลอง ระดับความเค็ม ณ วันที่เก็บตัวอย่างสำหรับการทดลองนี้ 33 psu

2. การแยกและเลี้ยงซูแซนเทลลี

เพื่อให้ทราบผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อซูแซนเทลลี จึงได้ทำการแยกและเลี้ยงซูแซนเทลลีจากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังในพื้นที่ศึกษาให้มากที่สุด โดยสำรวจตัวอย่างสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังต่างๆ ได้แก่ ปะการังแข็ง ปะการังอ่อน ดอกไม้ทะเล หอยมือเสือ และอื่นๆ ด้วยวิธีดำน้ำตื้นก่อนเก็บตัวอย่างด้วยวิธีดำน้ำลึกที่ระดับความลึก 1.5-4 เมตร นำตัวอย่างใส่ในลังโฟม โดยให้ตัวอย่างจมอยู่ใต้น้ำทะเลตลอดเวลา และนำกลับห้องปฏิบัติการทันที

นำตัวอย่างสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังมาฉีดด้วยน้ำทะเลกรองเพื่อแยกซูแซนเทลลีบน petri dish หลังจากนั้นนำน้ำที่ค้างใน petri dish ไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ดูดน้ำทะเลเหนือตะกอนทิ้ง แล้วจึงนำตะกอนก้นหลอดใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอน นำไปบ่มในห้องเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนซึ่งมีอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 4,000 ลักซ์ ช่วงมืด : สว่าง 12: 12 ชั่วโมง หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ นำมาแยกเลี้ยงซูแซนเทลลีด้วยเทคนิค Pasteur pipette single cell isolate แล้วทำการเพิ่มจำนวนและเลี้ยงในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Daigo IMK (Nihon Pharmaceutical Co., Ltd) นำไปบ่มในห้องเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนซึ่งมีอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 4,000 ลักซ์ ช่วงมืด: สว่าง 12: 12 ชั่วโมง (รูปที่ 10)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 10 ซูแซนเทลลีที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

3. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี

ซูแซนเทลลีที่ใช้ในการทดลองเป็น clonal culture ซึ่งแยกเลี้ยงมาจากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังบริเวณรอบเกาะแสมสาร 7 ชนิด ได้แก่

1). ปะการังโขด *Fungia fungites*

2). ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*

3). ดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp.

4). ปะการังอ่อน

5). ปะการังเขากวาง *Acropora millepora*

6). ปะการังรังผึ้ง *Goniastrea* sp.

7). หอยมือเสือ *Tridacna squamosa*

นำหัวเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 27 (ควบคุม), 30 และ 33 องศาเซลเซียส ก่อนเริ่มทำการทดลอง เพื่อให้ซูแซนเทลลีปรับตัวที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในแต่ละระดับอุณหภูมิจะประกอบด้วยชุดการทดลองต่างระดับความเค็ม ได้แก่ 10, 20 และ 30 (ควบคุม) psu โดยนำเซลล์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ซูแซนเทลลีใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Daigo' IMK (Nihon Pharmaceutical CO., Ltd) บรรจุอยู่ 150 มิลลิลิตร โดยให้มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นที่ 5,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำชุดการทดลองที่มีระดับความเค็มแตกต่างกัน (3ซ้ำ) ไปบ่มในแต่ละอุณหภูมิที่กำหนดไว้ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการสุ่มนับเซลล์ในแต่ละขวดทุก 2 วัน เป็นเวลาทั้งสิ้น 14 วัน (ตารางที่ 1) สังเกตลักษณะของเซลล์ทั้งรูปร่าง ขนาด สี และองค์ประกอบภายในเซลล์ซูแซนเทลลีในทุกกลุ่มการทดลองตลอดการทดลอง ด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงเชิงประกอบพร้อมบันทึกภาพ

ตารางที่ 1 การออกแบบการทดลอง ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี

อุณหภูมิ (°C) / **ความเค็ม (psu)**	**27 (ควบคุม)**	**30**	**33**
10			
20			
30 (ควบคุม)			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง นำผลที่ได้มาคำนวณสัมประสิทธิ์การเติบโตจำเพาะ โดยคำนวณจากสูตรของ Guillard (1973)

$$N_t = N_o e^{Ket}$$

โดย N_o แทน ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

N_t แทน ความหนาแน่นเซลล์ในวันที่ t (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

K_e แทน ค่าคงที่การเติบโตจำเพาะ

t แทน เวลา (วัน)

$N_t = N_o$ ที่ t = 0 และเปลี่ยนสมการโดยการเติม log ฐาน 10 จะได้

$$\log N = \log N_o + K_e t \log (e)$$

$$= \log N_o + (0.4343) K_e t$$

วิเคราะห์ผลทางสถิติ

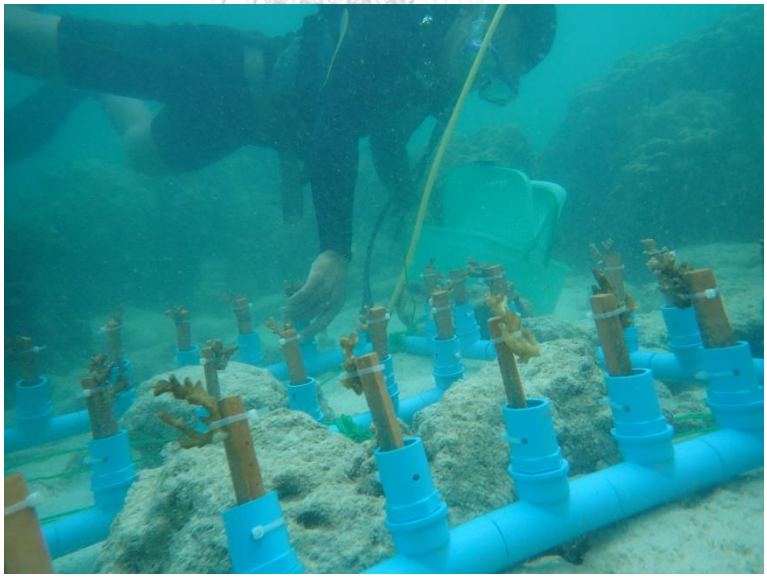
นำค่าความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลีที่ได้ในทุกกลุ่มการทดลองไปวิเคราะห์สหสัมพันธ์ เพื่อศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆ และวิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลองแบบ 7x3x3 Factorial experiment in CRD

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ

เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการทดลองที่ 3 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ 27 (ควบคุม) 30 และ 33 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในแต่ละระดับอุณหภูมิ มี 3 ระดับความเค็ม ได้แก่ 10 20 และ 30 (ควบคุม) psu ตามลำดับ

ก่อนเริ่มต้นการทดลองได้มีการเก็บและอนุบาลกิ่งปะการังที่จะใช้ศึกษา โดยสุ่มเก็บกอปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ที่ระดับความลึก 1.5-4 เมตร จาก 3 สถานีศึกษา ได้แก่ เขาหมาจอ เกาะปลาหมึก และ จุดดำน้ำหาดเทียน นำมาหักเป็นกิ่งเล็กๆ และปักกิ่งปะการังในท่อพีวีซี ยึดด้วยแผ่นกระเบื้องดินเผาและรัดด้วยสายรัดเคเบิ้ลไทร์ อนุบาลกิ่งปะการังทั้งหมดที่เขาหมาจอ ซึ่งเป็นสถานีที่ถูกรบกวนจากกิจกรรมท่องเที่ยวน้อยที่สุด (รูปที่ 11) เป็นระยะเวลา 2 เดือน ก่อนเริ่มทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงอ่าวไทยฝั่งตะวันออก อ.เมือง จ.ระยอง



รูปที่ 11 แปลงอนุบาลกิ่งปะการังสำหรับการทดลอง บริเวณเขาหมาจอ

ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการทดลองครั้งละ 1 อุณหภูมิ โดยในแต่ละระดับอุณหภูมิ มี 3 ตู้เลี้ยง ตู้ละ 1 ระดับความเค็ม ได้แก่ 10, 20 และ 30 (ควบคุม) psu แต่ละตู้เลี้ยงจะมี 3 ช่อง ในแต่ละช่องจะใส่กิ่งปะการังจากแต่ละสถานี (A – สถานีเขาหมาจอ B – สถานีเกาะปลาหมึก และ C – สถานี

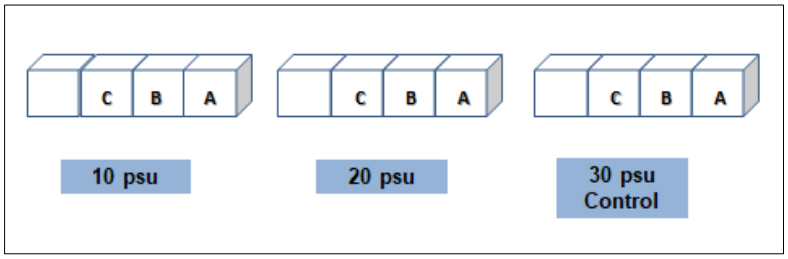
จุดดำน้ำหาดเทียน) ช่องละ 3 กิ่ง (Pseudo replication) เพื่อสังเกตดูแนวโน้มของแต่ละกลุ่มการทดลอง ในแต่ละตู้เลี้ยง น้ำทะเลได้รับออกซิเจนและหมุนเวียนตลอดเวลา โดยกรองผ่านใยสังเคราะห์เปลือกหอยนางรม ไบโอบอล และชุดกรองน้ำขนาด 5 ไมครอน ตามลำดับ โดยแต่ละตู้เลี้ยงแยกชุดกรองอย่างชัดเจน ภายใต้ความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ ช่วงมืด: สว่าง 12: 12 ชั่วโมง และ ไม่มีการให้อาหารเพิ่มเติมตลอดการทดลอง (รูปที่ 12)

การทดลองที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส คือระดับอุณหภูมิควบคุม สำหรับการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ 30 และ 33 องศาเซลเซียส จะปรับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นวันละ 1 องศาเซลเซียส จากอุณหภูมิควบคุมจนถึงระดับที่ต้องการศึกษา สำหรับความเค็ม ความเค็มควบคุมคือ 30 psu สำหรับระดับความเค็ม 20 และ 10 psu จะทำการปรับลดความเค็มลง 5 psu ทุก 6 ชั่วโมง จนถึงระดับความเค็มที่ต้องการศึกษา จึงเริ่มนับเป็นชั่วโมงที่ 0 ของการทดลอง

เมื่อเริ่มต้นการทดลอง นำกิ่งที่อนุบาลไว้มาปรับตัวในตู้ทดลอง ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม (27 องศาเซลเซียส) และความเค็มควบคุม (30 psu) ประมาณ 1 สัปดาห์ โดยไม่ให้อาหารเพิ่มเติม แต่มีการให้แสง เพื่อให้ซูแซนเทลลีสามารถสังเคราะห์แสงได้ และถือเป็นพลังงานหลักที่ปะการังได้รับในระหว่างการทดลอง ซึ่งในช่วงที่ปะการังปรับตัวนี้มีการตรวจเช็คสี และสุ่มนับซูแซนเทลลีในมวลน้ำทุก 6 ชั่วโมงเพื่อยืนยันว่าปะการังยังคงแข็งแรงและอยู่ในสภาพที่พร้อมที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้สำหรับการเริ่มต้นการทดลอง

สุ่มนับซูแซนเทลลีในมวลน้ำและประเมินเปอร์เซ็นต์การฟอกขาว ก่อนเริ่มการทดลอง และทำซ้ำทุก 6 ชั่วโมง ตลอด 72 ชั่วโมง สังเกตลักษณะของเซลล์ซูแซนเทลลีที่สุ่มเก็บในมวลน้ำทั้งรูปร่าง ขนาด สี และองค์ประกอบภายในเซลล์ตลอดการทดลอง ด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงเชิงประกอบ พร้อมบันทึกภาพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ก). ชุดการทดลอง 1 ชุด (1 ระดับอุณหภูมิ) แบ่งเป็น 3 ตู้เลี้ยง (3 ระดับความเค็ม)

ข). ตู้เลี้ยง 1 ตู้ (1 ระดับความเค็ม) พร้อมด้วยชุดกรอง

รูปที่ 12 ระบบการทดลองผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในการประเมินการฟอกขาวจะวัดโดย Coral health chart (ซึ่งจัดทำโดย The University of Queensland) บันทึกการเปลี่ยนแปลงของสีปะการัง (รูปที่ 13) โดยมีวิธีการดังนี้

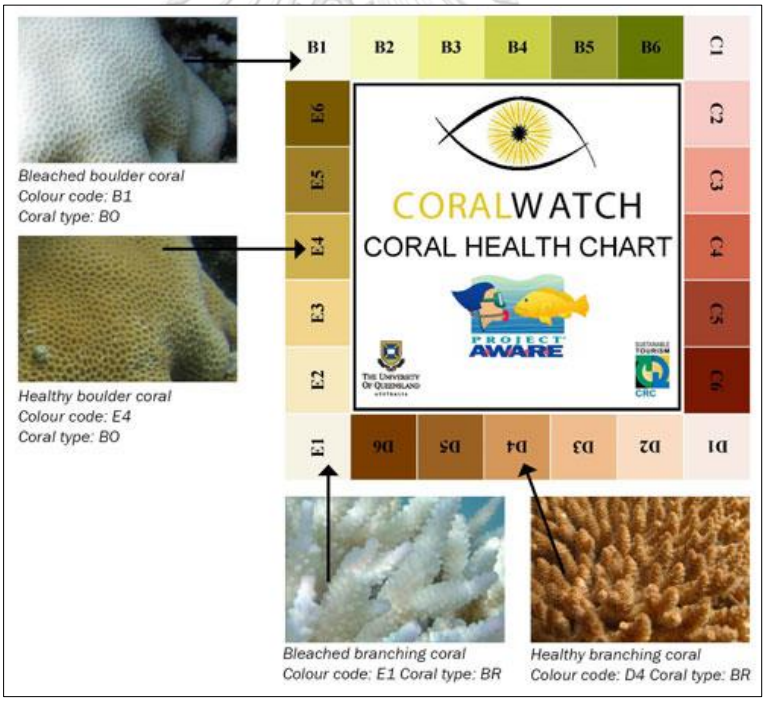
1) เลือกบริเวณที่มีสีจางที่สุด พยายามหลีกเลี่ยงส่วนปลายของกิ่ง

2) ถือแผนภาพ Coral health chart เหนือบริเวณที่เลือก

3) หมุนแผนภาพจนเจอเฉดสีที่ใกล้เคียงที่สุด

4) บันทึกสีที่ใกล้เคียงที่สุดด้วยรหัสสีตามแผนภาพ

5) ทำซ้ำข้อ 1-4 สำหรับบริเวณที่เข้มที่สุด



รูปที่ 13 Coral Health Chart และตัวอย่างการเทียบสี (จัดทำโดย The University of Queensland)

เก็บกิ่งปะการังในขณะเริ่มต้นการทดลอง ขณะที่ฟอกขาว และสิ้นสุดการทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลีในกิ่งปะการัง (หัวข้อที่ 6)

เนื่องจากในทดลองนี้ กิ่งปะการังที่ใช้ในแต่ละตู้เลี้ยงเป็น Pseudo replication เพื่อดูแนวโน้มผลของแต่ละกลุ่มการทดลองเท่านั้น จึงไม่ได้วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

5. การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*

เพื่อศึกษาการใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในการทดลองครั้งนี้มี 2 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 1 และ ชุดการทดลองที่ 2 แต่ละชุดการทดลองมี 4 ช่อง ได้แก่ ช่อง A, B, C และ D

นำกิ่งปะการังดอกกะหล่ำสุ่มวางเรียงในแต่ละช่องของทั้ง 2 ชุดการทดลอง ช่องละ 3 กิ่ง โดยให้ปะการังปรับตัวที่ระดับความเค็มควบคุม (33 psu) และอุณหภูมิควบคุม (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นจึงปรับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นวันละ 1 องศาเซลเซียส จนถึงระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส เมื่อปะการังฟอกขาวประมาณไม่เกิน 5% (แต่ละกิ่งมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นไม่เหมือนกัน) ให้ซูแซนเทลลี ทุก 6 ชม. เป็นเวลา 24 ชม. พร้อมทั้งสุ่มนับซูแซนเทลลีในมวลน้ำและสังเกตลักษณะเซลล์ โดยในแต่ละชุดการทดลองมีการให้ซูแซนเทลลี ดังนี้

Chulalongkorn University

ช่อง A – ควบคุม ไม่มีการให้ซูแซนเทลลีตลอดการทดลอง

ช่อง B - ให้ซูแซนเทลลีที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* (ผ่านการปรับตัวที่อุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง)

ช่อง C – ให้ซูแซนเทลลีที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* เลี้ยงที่อุณหภูมิปกติ (27 องศาเซลเซียส)

ช่อง D – ให้ซูแซนเทลลีที่แยกเลี้ยงจากดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp. เลี้ยงที่อุณหภูมิปกติ (27 องศาเซลเซียส)

หลังจากให้ซูแซนเทลลีครบ 24 ชั่วโมงแล้ว ชุดการทดลองที่ 1 ปรับอุณหภูมิลงวันละ 1 องศาเซลเซียส จนถึงระดับอุณหภูมิควบคุม (27 องศาเซลเซียส) สำหรับชุดการทดลองที่ 2 อุณหภูมิยังคงอยู่ที่ระดับ 33 องศาเซลเซียสต่อไปอีก 1 สัปดาห์ แล้วจึงปรับอุณหภูมิลงวันละ 1 องศาเซลเซียส จนถึงระดับอุณหภูมิควบคุม (27 องศาเซลเซียส) (รูปที่ 14)

ในช่วงก่อนเริ่มการทดลอง ในขณะที่ปะการังเกิดความเครียดหรือฟอกขาว ภายหลังจากให้สาหร่ายซูแซนเทลลี 24 ชั่วโมง และสิ้นสุดการทดลอง มีการตรวจวัดปัจจัยต่างๆ ดังนี้

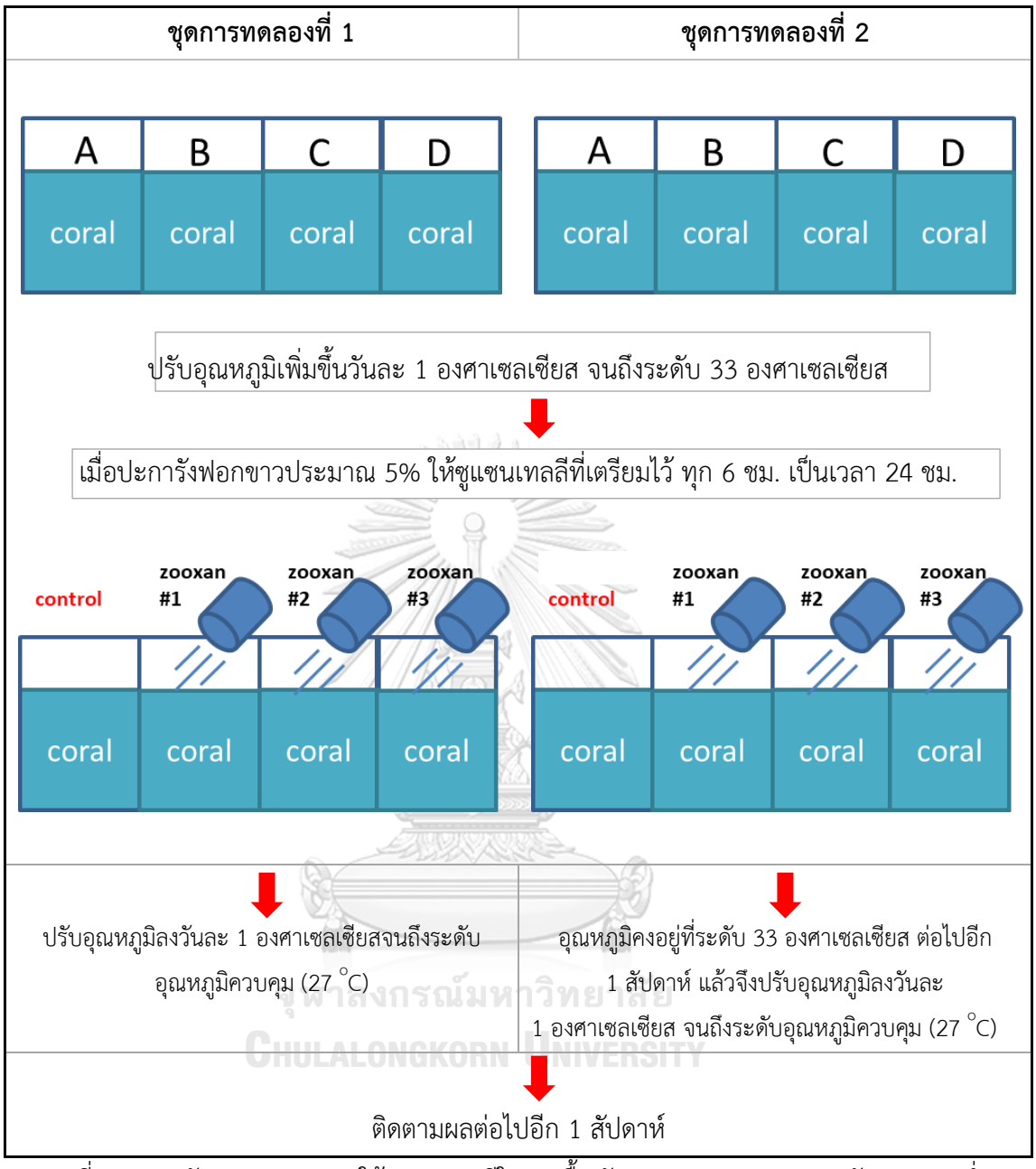
1). ประเมินการฟอกขาวโดยใช้ Coral Health Chart (หัวข้อ 5.3)

2). สุ่มนับซูแซนเทลลีในมวลน้ำ พร้อมสังเกตลักษณะของเซลล์ทั้งรูปร่าง ขนาด สี และองค์ประกอบภายในเซลล์

3). สุ่มเก็บกิ่งปะการัง เพื่อเพื่อนำไปวิเคราะห์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลีในกิ่งปะการัง (หัวข้อที่ 6)

เนื่องจากในทดลองนี้ กิ่งปะการังที่ใช้ในแต่ละตู้เลี้ยงเป็นซ้ำเทียม เพื่อดูแนวโน้มผลของแต่ละกลุ่มการทดลองเท่านั้น จึงไม่ได้วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 14 แผนผังการทดลองการใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ

6. การศึกษาสายพันธุ์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลี

ทำการวิเคราะห์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลีจากกิ่งปะการังดอกกะหล่ำที่ใช้ในการทดลองผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาว และการทดลองการใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ ก่อนและหลังการทดลอง โดยมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

6.1 การเตรียมและเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สายพันธุ์ซูแซนเทลลี

เก็บชิ้นปะการังขนาดความยาวของกิ่งประมาณ 1 เซนติเมตรทั้งก่อนและหลังการทดลองในทุกกลุ่มการทดลองใส่หลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ โดยเก็บรักษาในเอทานอลบริสุทธิ์ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ทดลอง

6.2 การสกัดสารพันธุกรรม (DNA Extraction)

สกัดสารพันธุกรรมด้วยชุดสกัดสารพันธุกรรม Favorgen, Taiwan (FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit) ตามขั้นตอนการสกัดสารที่ระบุ

สำหรับชิ้นส่วนปะการังที่เก็บรักษาในเอทานอลบริสุทธิ์ ซับแอลกอฮอล์ส่วนเกินออกแล้วบดให้ละเอียดด้วยครกบดยาขนาดเล็ก ก่อนนำไปสกัดสารพันธุกรรม

6.3 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase Chain Reaction หรือ PCR)

นำสารพันธุกรรมที่สกัดได้มาทำการเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ SymITSFP (5’-CTCAGCTCTGGACGTTGYGTTGG-3’) และ SymITSb (5’-GCGGGTTCACTTGTCTGACT-3’) (Van open *et al*., 2001) เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วย 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที 30 รอบ ตามด้วย 50 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 10 นาที จากนั้นเมื่อทำปฏิกิริยาลูกโซ่เสร็จสิ้น จึงนำผลิตภัณฑ์สารพันธุกรรมไปตรวจสอบคุณภาพและปริมาณด้วยวิธีเจลอิเลคโตรโฟรีซีส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

6.4 การตรวจวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม

ส่งผลิตภัณฑ์สารพันธุกรรมซึ่งผ่านการทำบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง Applied Bio system 3730XL sequencer โดยบริษัท Macrogen Inc. เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลลำดับสารพันธุกรรม นำข้อมูลดังกล่าวมาตรวจสอบโดยโปรแกรม Bio Edit Version 7.0.5.3 เพื่อเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับสารพันธุกรรมในแต่ละตัวอย่าง นำข้อมูลลำดับสารพันธุกรรมตรวจสอบกับฐานข้อมูล (GenBank) ด้วยโปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) เพื่อยืนยันความเหมือนหรือความแตกต่างของสายพันธุ์ซูแซนเทลลีในปะการังทั้งก่อนและหลังการทดลอง และทำแผนภูมิวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 และ Neighbor joining เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของสาหร่ายซูแซนเทลลีในแต่ละสกุล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการศึกษา

1. การแยกและเลี้ยงซูแซนเทลลี

หลังจากเก็บตัวอย่างสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังต่างๆในพื้นที่ศึกษามาแยกและเพาะเลี้ยงซูแซนเทลลีในห้องปฏิบัติการ พบว่า สามารถแยกและเลี้ยงซูแซนเทลลีจากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังได้ทั้งสิ้น 7 ชนิด ได้แก่

1). ปะการังโขด *Fungia fungites*

2). ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*

3). ดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp.

4). ปะการังอ่อน

5). ปะการังเขากวาง *Acropora millepora*

6). ปะการังรังผึ้ง *Goniastrea* sp.

7). หอยมือเสือ *Tridacna squamosa*

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

นำซูแซนเทลลีที่เลี้ยงได้จากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 7 ชนิด ไปศึกษาทางพันธุศาสตร์ โดยได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) พบว่า ซูแซนเทลลีที่แยกเลี้ยงจากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลัง 7 ชนิด เป็นซูแซนเทลลีในสกุล *Durusdinium* spp. (D1) ทั้งหมด

2. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี

ลักษณะการเติบโตของซูแซนเทลลีที่แยกจากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ ปะการังดอกเห็ด ปะการังดอกกะหล่ำ ดอกไม้ทะเล ปะการังอ่อน ปะการังเขากวาง ปะการังรังผึ้ง และ หอยมือเสือ ภายใต้สภาวะควบคุมที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30 psu ความเข้มแสงประมาณ 4,000 ลักซ์ ช่วงมืด: สว่าง 12: 12 ชั่วโมง) มีรูปแบบการเติบโตคล้ายคลึงกัน โดยในช่วง 2 วันแรก เซลล์ลดจำนวนลงหรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์เริ่มต้น (Lag Phase) หลังจากนั้นเซลล์จะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 4-10 (Logarithmic Phase) และอัตราการเติบโตจะค่อยๆลดลง (Stationary Phase) และลดลงต่อเนื่องในช่วง 4 วันสุดท้ายของการทดลอง (Death Phase) (รูปที่ 15 ก.) โดยมีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp. มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงที่สุด เท่ากับ 0.683 ± 0.074 รองลงมาคือ ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ ที่ระดับอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

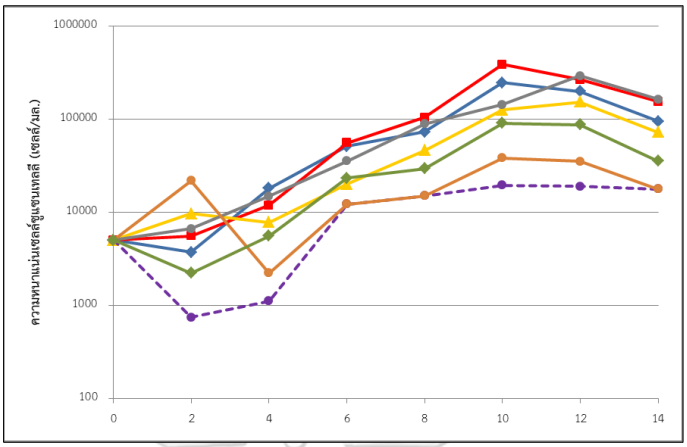
ซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ	ความเค็ม 30 psu	ความเค็ม 20 psu
1. ปะการังดอกเห็ด *Fungia fungites*	0.573 ± 0.071	0.496 ± 0.046
2. ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*	0.646 ± 0.081	0.545 ± 0.173
3. ดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp.	0.683 ± 0.074	0.445 ± 0.097
4. ปะการังอ่อน	0.539 ± 0.125	0.419 ± 0.056
5. ปะการังเขากวาง *Acropora millepora*	0.483 ± 0.242	0.409 ± 0.255
6. ปะการังรังผึ้ง *Goniastrea* sp.	0.485 ± 0.255	0.474 ± 0.269
7. หอยมือเสือ *Tridacna squamosa*	0.431 ± 0.185	0.417 ± 0.242

ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม (27 องศาเซลเซียส) ซูแซนเทลลีเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้ความเค็มควบคุม (30 psu) โดยเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 4-10 วันแรก หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดจำนวนลง โดยซูแซนเทลลีที่แยกจากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังแต่ละชนิด มีอัตราการเติบโตที่แตกต่างกันออกไป ดังแสดงในตาราง 2 ซึ่งซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเลมีค่าอัตราการเติบโตสูงที่สุดเท่ากับ 0.683 ± 0.074

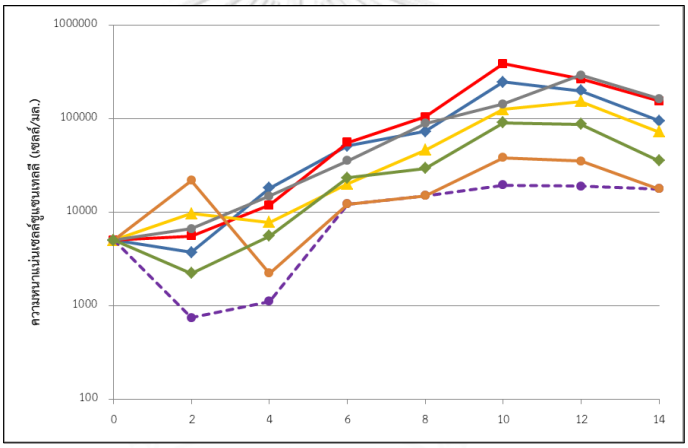
ซูแซนเทลลีสามารถเติบโตได้ที่ระดับความเค็ม 20 psu โดยพบว่า ซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยส่วนใหญ่เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วง 8 วันแรก ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกเห็ด ปะการังดอกกะหล่ำ และหอยมือเสือ เติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 8-10 จากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 4 วันสุดท้ายของการทดลอง ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเลและปะการังอ่อน เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 8-12 และลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันสุดท้ายของการทดลอง สำหรับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวางและปะการังรังผึ้งมีการเติบโตเพียงเล็กน้อยตลอดการทดลอง (รูปที่ 15 ข.) ค่าอัตราการเติบโตของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆมีค่าน้อยกว่าที่ระดับความเค็มควบคุม โดยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำมีค่าอัตราการเติบโตสูงที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.545 ± 0.173 (ตารางที่ 2)

เมื่อซูแซนเทลลีอยู่ภายใต้ภาวะความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง (10 psu) ซูแซนเทลลีไม่สามารถเติบโตได้ โดยความหนาแน่นเซลล์ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรกของการทดลอง จากนั้นความหนาแน่นเซลล์จะเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 2-4 ก่อนที่จะค่อยๆลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ยกเว้นซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง ความหนาแน่นเซลล์มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง 2 วันแรก ก่อนที่จะลดลงอย่างรวดเร็วในอีก 2 วันถัดมา (รูปที่ 15 ค.)

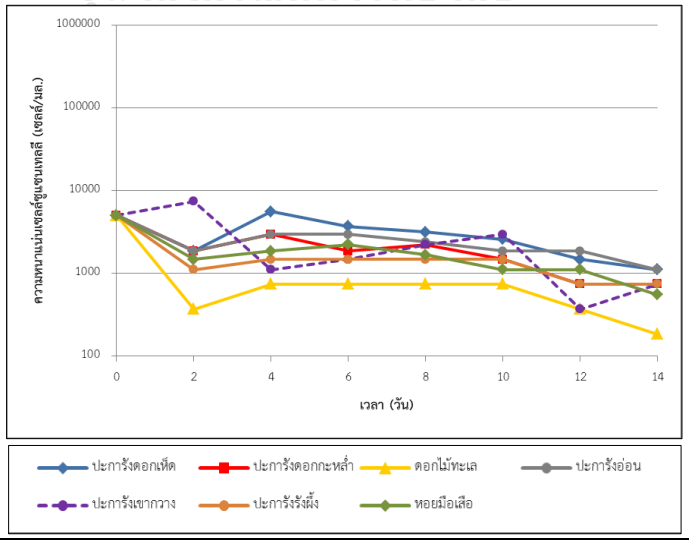
ก). ความเค็ม 30 psu (ควบคุม)



ข). ความเค็ม 20 psu



ค). ความเค็ม 10 psu



รูปที่ 15 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีซึ่งเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

ที่ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็ม 30 (ควบคุม) และ 20 psu ซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ สามารถเติบโตได้ โดยมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง 4 วันแรก และมีการเพิ่มจำนวนขึ้นในช่วงวันที่ 4-10 และลดจำนวนลงในช่วง 4 วันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 10-14) (รูปที่ 16 ก.-ข.) ภายใต้ระดับความเค็มควบคุม (30 psu) ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเลมีค่าอัตราเติบโตจำเพาะสูงที่สุด เท่ากับ 0.497 ± 0.182 และเมื่ออยู่ภายใต้ระดับความเค็ม 20 psu ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ มีค่าอัตราเติบโตจำเพาะสูงที่สุด เท่ากับ 0.432 ± 0.159 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ ที่ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

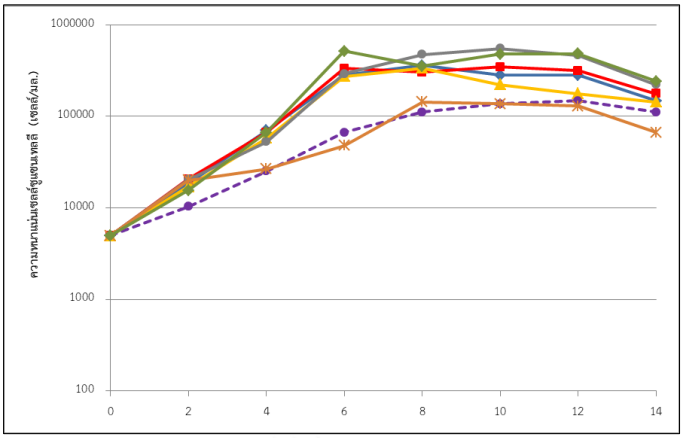
ซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ	**ความเค็ม 30 psu**	**ความเค็ม 20 psu**
1. ปะการังดอกเห็ด *Fungia fungites*	0.494 ± 0.135	0.373 ± 0.098
2. ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*	0.447 ± 0.126	0.432 ± 0.159
3. ดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp.	0.497 ± 0.182	0.361 ± 0.010
4. ปะการังอ่อน	0.391 ± 0.159	0.391 ± 0.135
5. ปะการังเขากวาง *Acropora millepora*	0.395 ± 0.290	0.392 ± 0.235
6. ปะการังรังผึ้ง *Goniastrea* sp.	0.422 ± 0.336	0.376 ± 0.272
7. หอยมือเสือ *Tridacna squamosa*	0.371 ± 0.198	0.284 ± 0.173

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

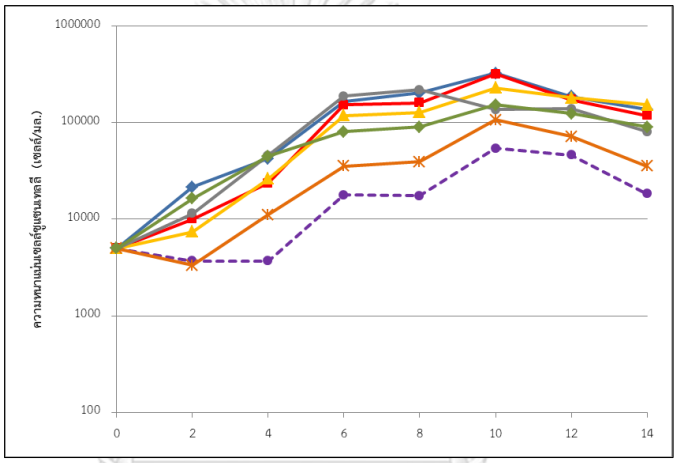
ที่ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง (10 psu) ในช่วง 2 วันแรกของการทดลอง ซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยส่วนใหญ่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ยกเว้นซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ก่อนที่จะลดลงอย่างเร็วเร็วในวันที่ 4 สำหรับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังอ่อน เพิ่มจำนวนจนถึงวันที่ 4 และซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกเห็ด เพิ่มจำนวนจนถึงวันที่ 6 ก่อนที่จะลดจำนวนลง ซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยส่วนใหญ่ตายในช่วงวันที่ 8-12 ยกเว้นซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเลตายในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 14) แต่ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังอ่อน สามารถอยู่รอดได้ตลอดการทดลอง โดยวันสุดท้ายของการทดลองพบความหนาแน่นซูแซนเทลลี 370 เซลล์/มล. (รูปที่ 16 ค.)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

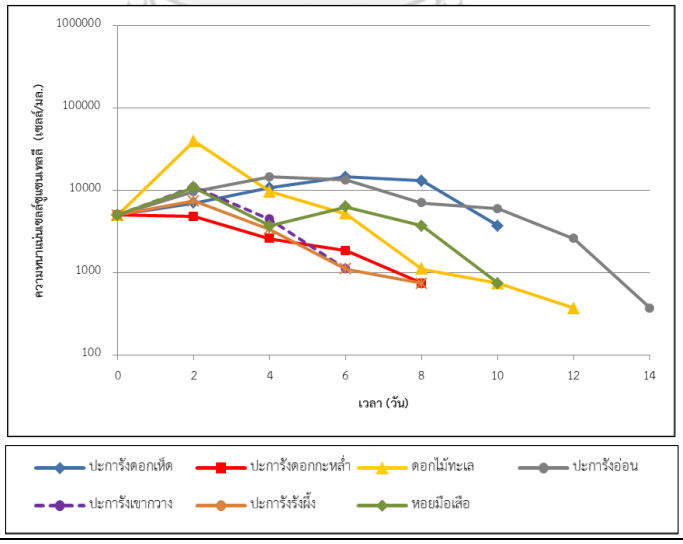
ก). ความเค็ม 30 psu (ควบคุม)



ข). ความเค็ม 20 psu



ค). ความเค็ม 10 psu



รูปที่ 16 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีซึ่งเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

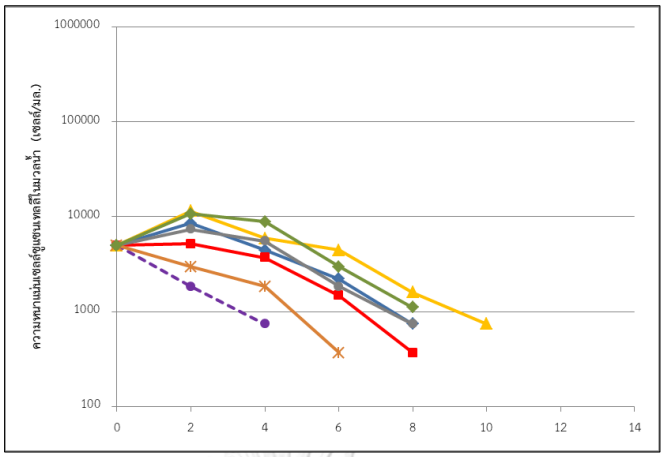
ที่ระดับอุณหภูมิสูงที่สุดของการทดลอง 33 องศาเซลเซียส ซูแซนเทลลีไม่สามารถเติบโตได้ในทุกระดับความเค็ม โดยที่ระดับความเค็มควบคุม 30 psu ซูแซนเทลลีส่วนใหญ่ตายในช่วงวันที่ 8-10 ยกเว้นซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเลตายในวันที่ 12 ของการทดลอง และมีความหนาแน่นเซลล์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดอื่น โดยพบความหนาแน่น 11,481 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 2 ของการทดลอง (รูปที่ 17 ก.)

ที่ระดับความเค็ม 20 psu พบว่าซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังอ่อนมีความหนาแน่นมากที่สุด โดยพบความหนาแน่น 5,926 เซลล์/มิลลิลิตร ในวันที่ 2 ของการทดลอง และเซลล์ซูแซนเทลลีส่วนใหญ่ตายในช่วงวันที่ 4-6 ของการทดลอง (รูปที่ 17 ข.)

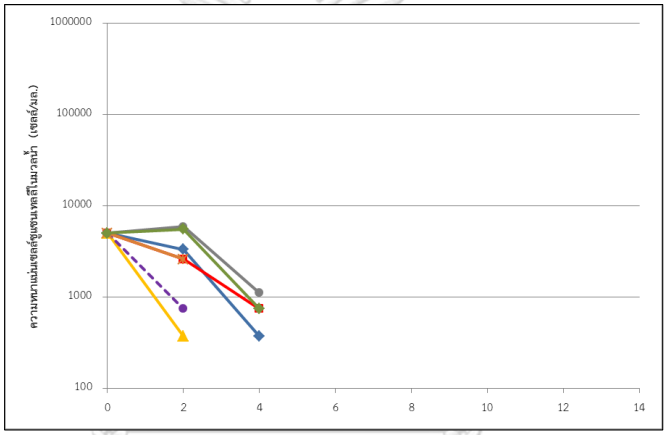
ที่ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง 10 psu ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังอ่อนพบความหนาแน่นมากที่สุด 7,778 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 2 ของการทดลอง โดยซูแซนเทลลีส่วนใหญ่ตายในวันที่ 4 ของการทดลอง ยกเว้นซูแซนเทลลีจากปะการังดอกกะหล่ำตายในวันที่ 6 ของการทดลอง (รูปที่ 17 ค)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

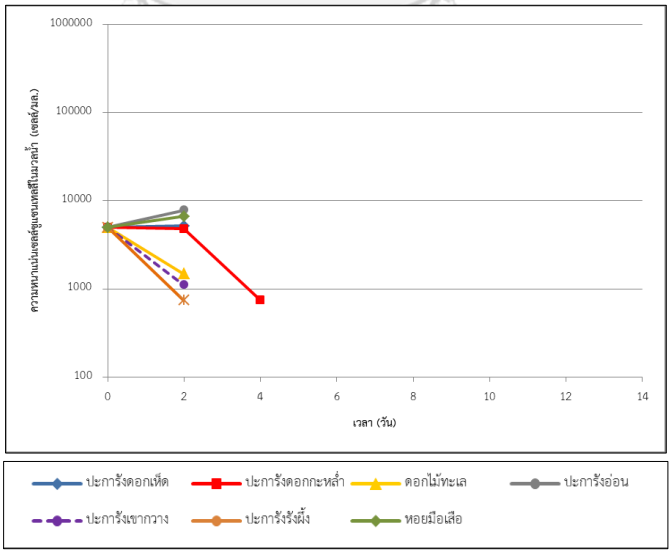
ก). ความเค็ม 30 psu (ควบคุม)



ข). ความเค็ม 20 psu



ค). ความเค็ม 10 psu



รูปที่ 17 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีซึ่งเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

ผลวิเคราะห์ทางสถิติ

จากการทดสอบสหสัมพันธ์ พบว่า ความเค็มมีปฏิสัมพันธ์กับความหนาแน่นของซูแซนเทลลีในเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ถ้าความเค็มเพิ่มสูงขึ้น จะพบความหนาแน่นของซูแซนเทลลีเพิ่มสูงขึ้น แต่อุณหภูมิมีปฏิสัมพันธ์กับความหนาแน่นของซูแซนเทลลีในเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ถ้าอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น พบความหนาแน่นซูแซนเทลลีในมวลน้ำลดต่ำลง (ตารางที่ ข1)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติตามแผนการทดลองแบบ 7x3x3 Factorial experiment in CRD พบว่า ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลีในแต่ละระดับความเค็มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยขึ้นกับระดับของอุณหภูมิ และพบว่าความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลีในแต่ละระดับอุณหภูมิแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยขึ้นกับชนิดของซูแซนเทลลี ($p < 0.05$) และหากพิจารณาทั้ง 3 ปัจจัยร่วมกัน ได้แก่ ชนิดของซูแซนเทลลี อุณหภูมิ และความเค็ม จะพบว่า ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลีแต่ละชนิดไม่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 15-17 (ตารางที่ ข2)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายซูแซนเทลลีแต่ละชนิด ด้วยวิธี Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าปะการังเขากวางและปะการังรังผึ้งมีค่าความหนาแน่นน้อยที่สุด ในขณะที่ปะการังดอกกะหล่ำและปะการังอ่อนมีค่าความหนาแน่นสูงที่สุด (ตารางที่ ข3) โดยค่าเฉลี่ยความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1). ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง ปะการังรังผึ้ง และหอยมือเสือ ไม่แตกต่างกัน

2). ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลีที่แยกจากหอยมือเสือ ดอกไม้ทะเล และปะการังดอกเห็ด ไม่แตกต่างกัน

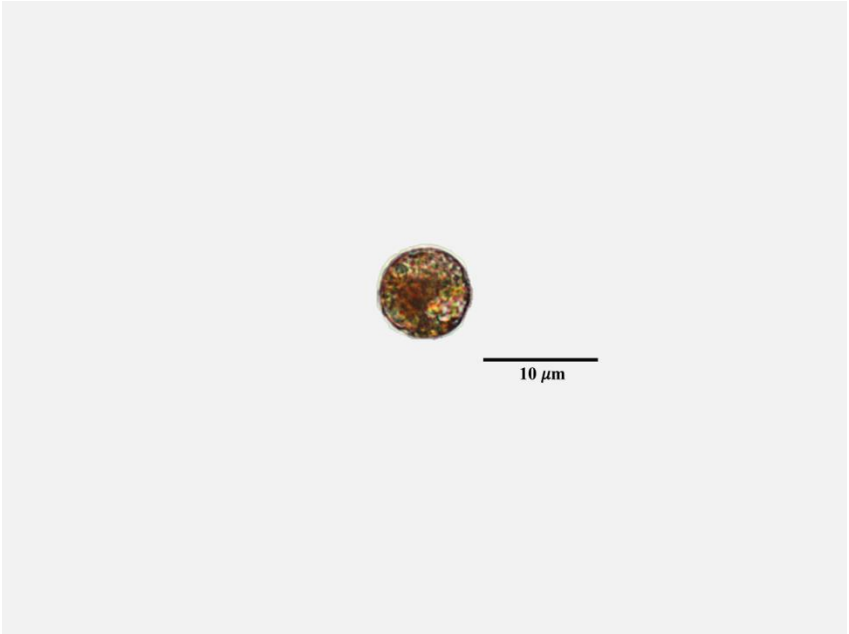
3). ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลีที่แยกจาก ดอกไม้ทะเล ปะการังดอกเห็ด ปะการังดอกกะหล่ำ และปะการังอ่อน ไม่แตกต่างกัน

ลักษณะเซลล์ซูแซนเทลลี

เซลล์ซูแซนเทลลีซึ่งเพาะเลี้ยงที่ภาวะควบคุม (27 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30 psu) จะมีลักษณะกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 ไมโครเมตร มีสีน้ำตาลอมเหลืองและพบรงควัตถุสีเขียวภายในเซลล์จำนวนมาก ซึ่งเป็นลักษณะของเซลล์ซูแซนเทลลีปกติที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ (รูปที่ 18) ในขณะที่เซลล์ซูแซนเทลลีซึ่งเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูงที่สุดของการทดลอง (33 องศาเซลเซียส) ในทุกระดับความเค็ม และเซลล์ซูแซนเทลลีที่เพาะเลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง (10 psu) ที่ทุกระดับอุณหภูมิ เซลล์มีสีจางลงเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติและสูญเสียรงควัตถุภายในเซลล์อย่างชัดเจน แม้ว่าจะมีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกับเซลล์ซูแซนเทลลีภายใต้สภาวะควบคุมก็ตาม (รูปที่ 19) และหากเปรียบเทียบในทุกกลุ่มการทดลองแล้วเซลล์ซูแซนเทลลีมีการหดตัว และมีสีจาง เมื่ออยู่ที่อุณหภูมิสูงที่สุด 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง 10 psu

จากการทดลองผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของสาหร่ายซูแซนเทลลี ทำให้ทราบว่า ที่สภาวะควบคุม (อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30 psu) ซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆมีรูปแบบที่คล้ายกัน แต่เมื่ออยู่ภายใต้อุณหภูมิสูงสุดของการทดลอง (33 องศาเซลเซียส) ที่ระดับความเค็มควบคุม 30 psu พบว่า ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเลมีอายุนานที่สุด (12 วัน) และมีความหนาแน่นเซลล์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดอื่น จึงเลือกซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล เป็นตัวแทนซูแซนเทลลีที่มาจากผู้ให้อาศัยต่างชนิด และเลือกซูแซนเทลลี่ที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ เป็นตัวแทนของซูแซนเทลลีที่มาจากผู้ให้อาศัยชนิดเดียวกันไปใช้ในการทดลอง “การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*” ต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



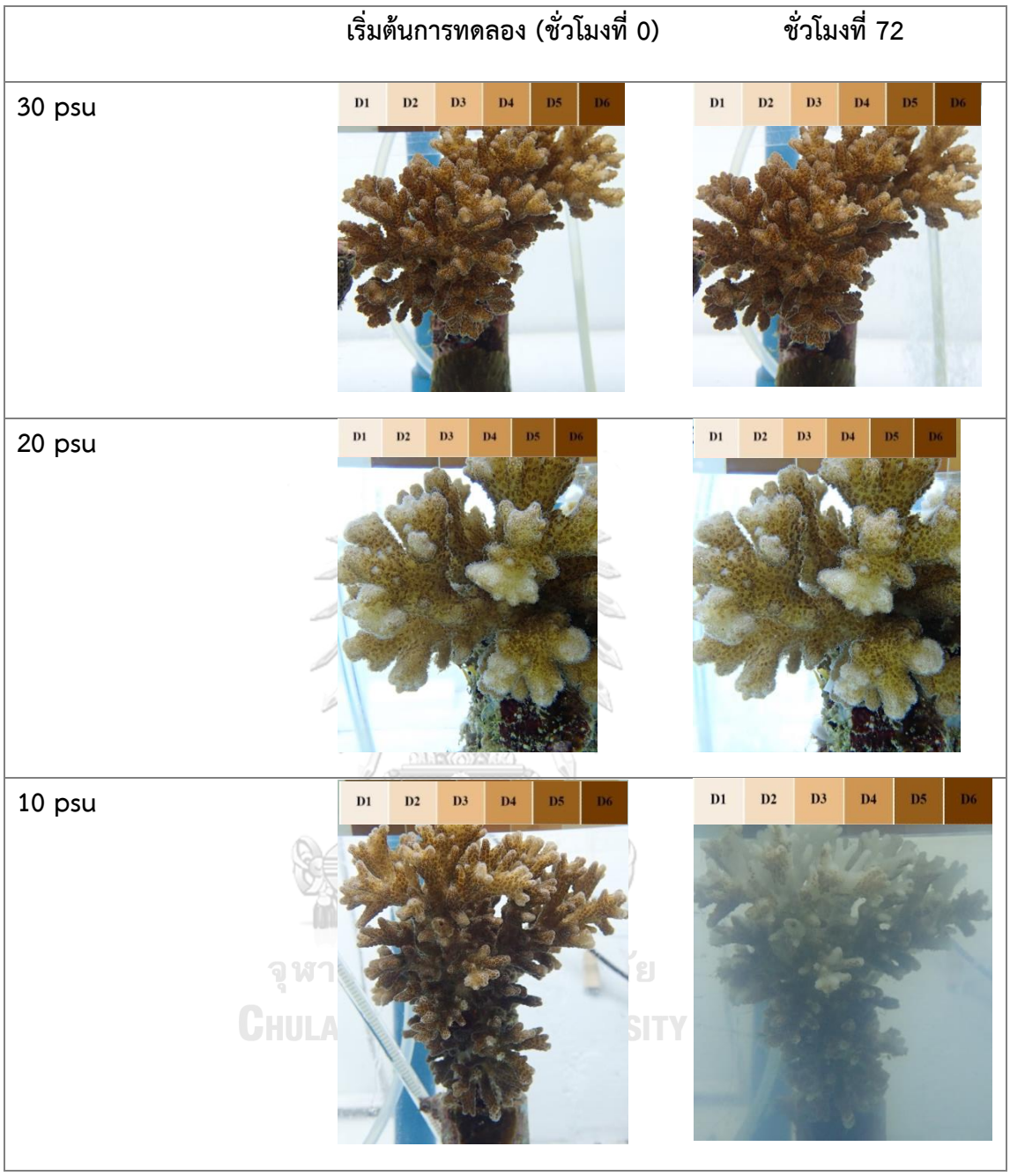
รูปที่ 18 เซลล์ซูแซนเทลลีปกติ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิและความเค็มควบคุม

รูปที่ 19 เซลล์ซูแซนเทลลีซึ่งสูญเสียรงควัตถุภายในเซลล์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูง (33 องศาเซลเซียส) ภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง (10 psu)

3. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ

ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มควบคุม 30 psu และความเค็ม 20 psu พบว่ากิ่งปะการังทั้งหมดปกติ (ไม่พบการฟอกขาว) โดยไม่พบซูแซนเทลลีในมวลน้ำตลอดการทดลอง แต่ที่ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง 10 psu พบฟอกขาวจนถึงระดับ D1 50-70% ทุกสถานี (สี Coral health chart บริเวณที่จางที่สุด: สถานี A เขาหมาจอ – D1 65% สถานี B เกาะปลาหมึก – D1 50% และสถานี C จุดดำน้ำหาดเทียน – D1 70%) (รูปที่ 20) และ ไม่พบซูแซนเทลลีในมวลน้ำเช่นเดียวกัน แม้ว่าจะมีการฟอกขาว เนื่องจากในกลุ่มการทดลองนี้ ปะการังมีการฟอกขาวโดยเนื้อเยื่อหลุดล่อนเป็นแผ่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



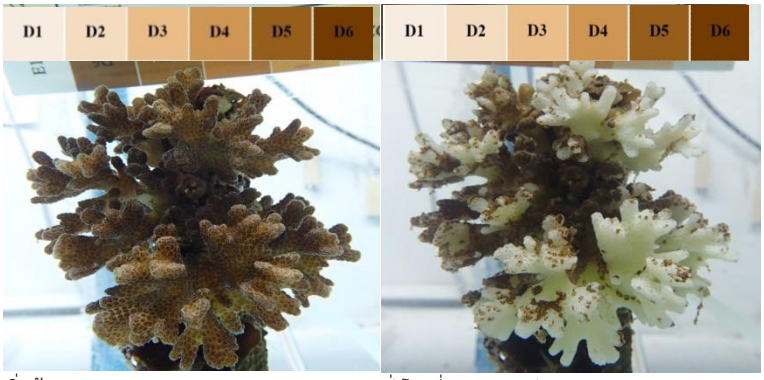
รูปที่ 20 กิ่งปะการังที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็ม 10, 20 และ 30 psu ในขณะเริ่มต้นการทดลอง และชั่วโมงที่ 72

ที่ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มควบคุม (30 psu) ไม่พบกิ่งปะการังฟอกขาวทุกสถานี พบซูแซนเทลลีในมวลน้ำเฉลี่ย 0-20 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายใต้ระดับความเค็ม 20 psu พบว่ากิ่งปะการังส่วนใหญ่เริ่มฟอกขาวเมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมงและพบฟอกขาว 5-50% เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 72 ชั่วโมง (สี Coral health chart บริเวณที่จางที่สุด: สถานี A เขาหมาจอ – D2 5% สถานี B เกาะปลาหมึก – D1 10% และสถานี C จุดดำน้ำหาดเทียน – D1 50%) สถานี A พบความหนาแน่นซูแซนเทลลีในมวลน้ำสูงที่สุด 44 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สถานี B พบความหนาแน่นซูแซนเทลลีในมวลน้ำสูงที่สุด 80 เซลล์ต่อมิลลิตร และที่สถานี C พบซูแซนเทลลีถูกปล่อยออกมาในมวลน้ำมากที่สุด 772 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 26)

สำหรับที่ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง 10 psu พบว่ากิ่งปะการังดอกกะหล่ำจากทุกสถานีฟอกขาว 40-70% และกิ่งปะการังจากสถานี A ตายเมื่อเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมง กิ่งปะการังจากสถานี B ตายที่เวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่กิ่งปะการังจากสถานี C ยังคงมีชีวิตอยู่ (รูปที่ 21) สถานี A พบความหนาแน่นซูแซนเทลลีในมวลน้ำสูงที่สุด 100 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สถานี B พบความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลีในมวลน้ำสูงที่สุด 234 เซลล์ต่อมิลลิตร และที่สถานี C พบซูแซนเทลลีถูกปล่อยออกมาในมวลน้ำมากที่สุด 284 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 26) ในกลุ่มการทดลองนี้ พบว่าปะการังมีการฟอกขาวโดยเนื้อเยื่อหลุดล่อนเป็นแผ่น

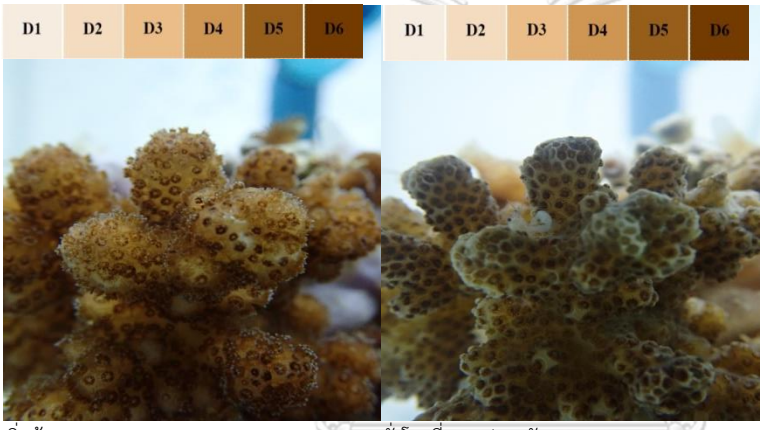
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ก) สถานีเกาะปลาหมึก



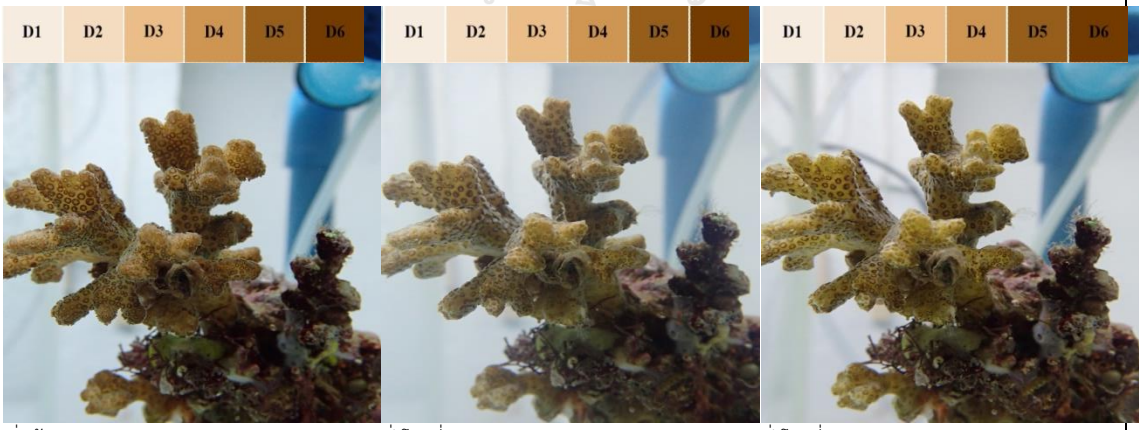
เริ่มต้นการทดลอง ชั่วโมงที่ 18 (ปะการังตาย)

ข) สถานีจุดดำน้ำหาดเทียน



เริ่มต้นการทดลอง ชั่วโมงที่ 18 (ปะการังตาย)

ค) สถานีเขาหมาจอ



เริ่มต้นการทดลอง ชั่วโมงที่ 24 ชั่วโมงที่ 72

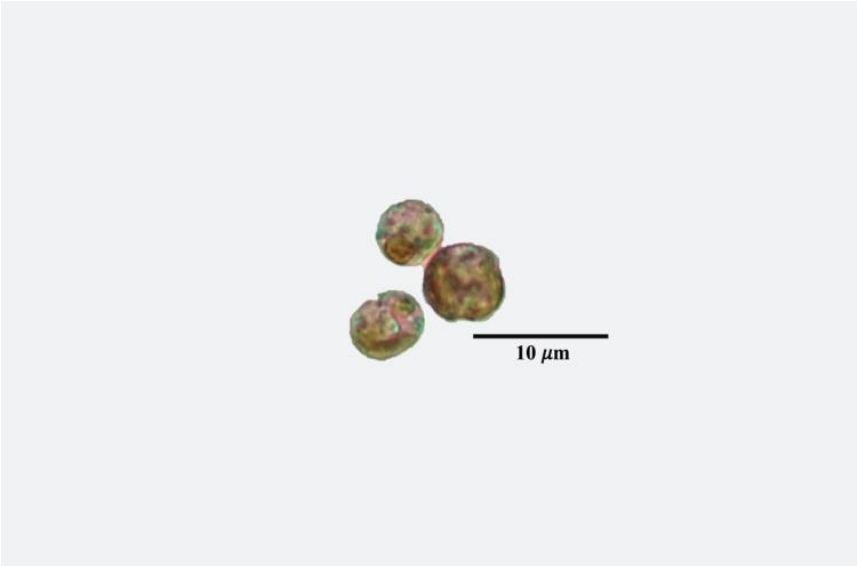
รูปที่ 21 กิ่งปะการังจากสถานีต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง 10 psu

ที่ระดับอุณหภูมิสูงที่สุดของการทดลอง 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มควบคุม 30 psu พบว่า กิ่งปะการังเปลี่ยนสีจากระดับ D6 เป็น D4 แต่ไม่พบการฟอกขาวถึงระดับ D1 ตลอด 72 ชั่วโมง

ภายใต้ระดับความเค็ม 20 psu พบกิ่งปะการังฟอกขาวระดับ D1 15-25 % ที่ 72 ชั่วโมงของการทดลอง (สี Coral health chart บริเวณที่จางที่สุด: สถานี A เขาหมาจอ – D1 20% สถานี B เกาะปลาหมึก – D1 15% และสถานี C จุดดำน้ำหาดเทียน – D1 25%)

เมื่อปะการังอยู่ภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง (10 psu) พบปะการังฟอกขาวระดับ D1 สูงถึง 50-90% (สี Coral health chart บริเวณที่จางที่สุด: สถานี A เขาหมาจอ – D1 90% สถานี B เกาะปลาหมึก – D1 70% และสถานี C จุดดำน้ำหาดเทียน – D1 90%) ซึ่งถือเป็นอัตราการฟอกขาวที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองทั้งหมด และกิ่งปะการังจากทุกสถานีตายเมื่อเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมงของการทดลอง (รูปที่ 23-25) และพบซูแซนเทลลีหลุดออกมาในมวลน้ำมากที่สุดที่สถานี C 1,870 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 26) โดยสาหร่ายซูแซนเทลลีที่พบในกลุ่มการทดลองนี้สูญเสียรงควัตถุภายในเซลล์และมีสีจางลงเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติที่สภาวะควบคุม (รูปที่ 22)

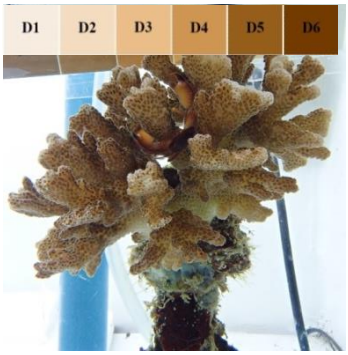
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



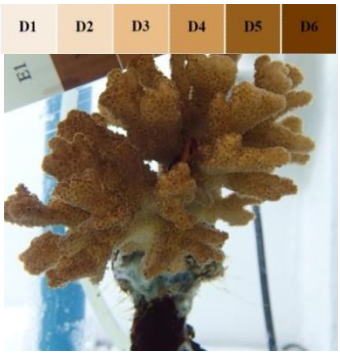
รูปที่ 22 เซลล์ซูแซนเทลลีในมวลน้ำ ซึ่งพบที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ความเค็ม 10 psu

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ก) ความเค็ม 30 psu (ควบคุม)

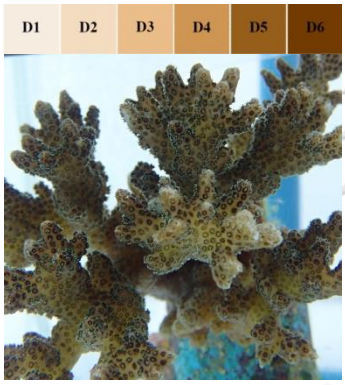


ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)

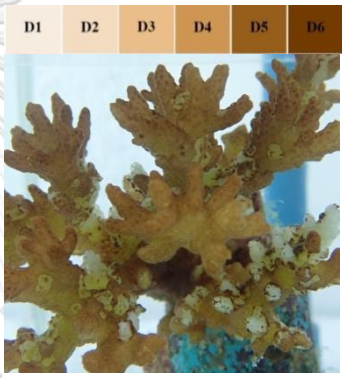


ชั่วโมงที่ 72

ข) ความเค็ม 20 psu

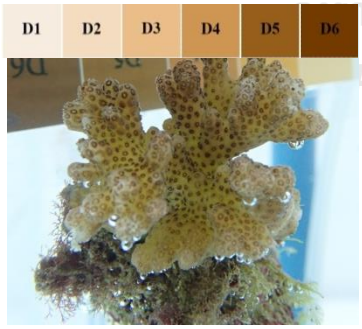


ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)

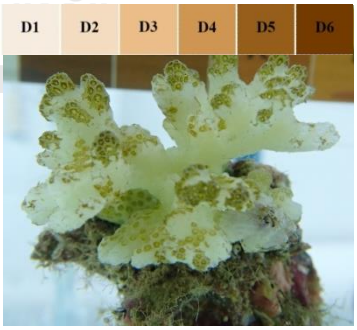


ชั่วโมงที่ 72

ค) ความเค็มต่ำที่สุด 10 psu



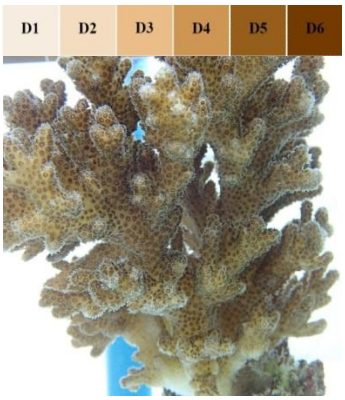
ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)



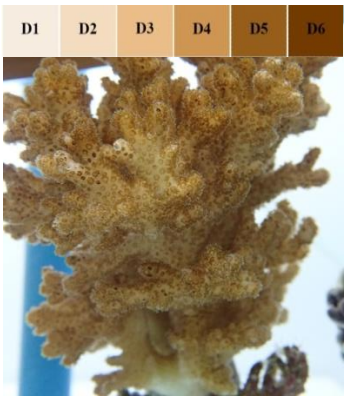
ชั่วโมงที่ 18

รูปที่ 23 ปะการังจากสถานี A เขาหมาจอ ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเค็ม 3 ระดับ ได้แก่ ก) ความเค็มควบคุม 30 psu ข) ความเค็ม 20 psu และ ค) ความเค็มต่ำที่สุด 10 psu

ก) ความเค็ม 30 psu (ควบคุม)

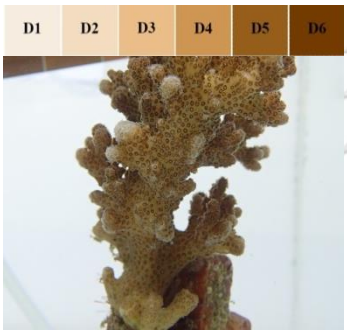


ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)

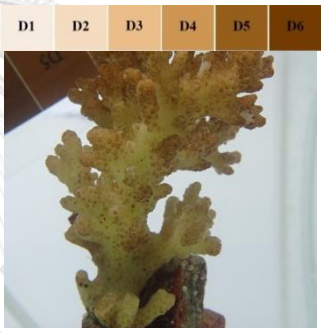


ชั่วโมงที่ 72

ข) ความเค็ม 20 psu

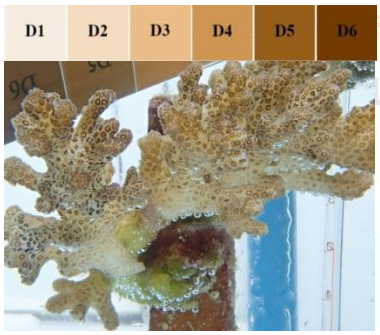


ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)

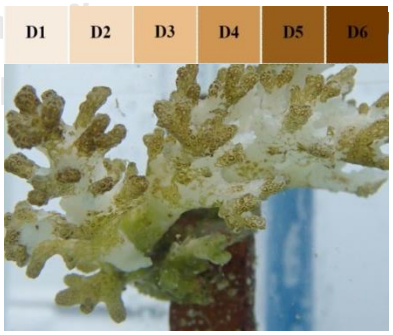


ชั่วโมงที่ 72

ค) ความเค็มต่ำที่สุด 10 psu



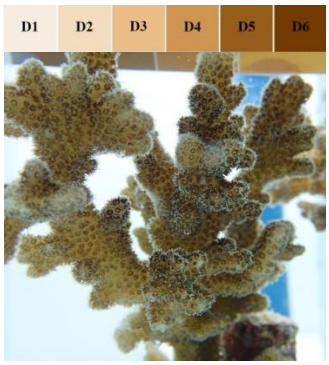
ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)



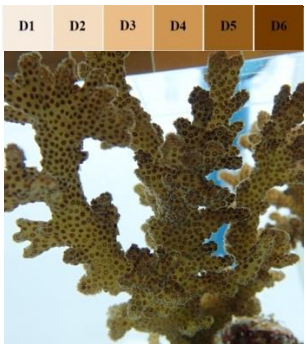
ชั่วโมงที่ 18

รูปที่ 24 กิ่งปะการังจากสถานี B เกาะปลาหมึก ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเค็ม 3 ระดับได้แก่ ก) ความเค็มควบคุม 30 psu ข) ความเค็ม 20 psu และ ค) ความเค็มต่ำที่สุด 10 psu

ก) ความเค็ม 30 psu (ควบคุม)

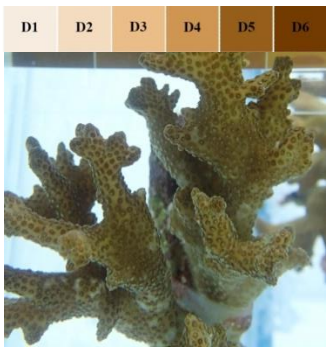


ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)

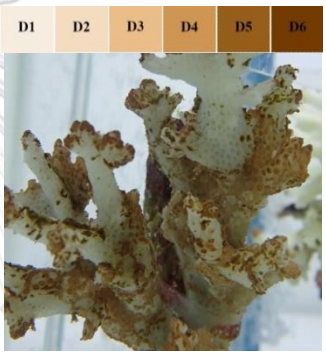


ชั่วโมงที่ 72

ข) ความเค็ม 20 psu

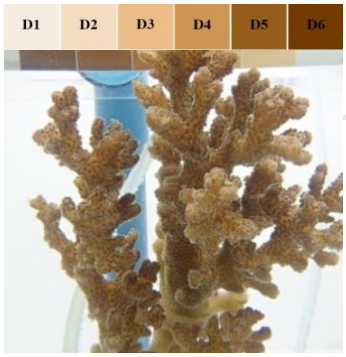


ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)

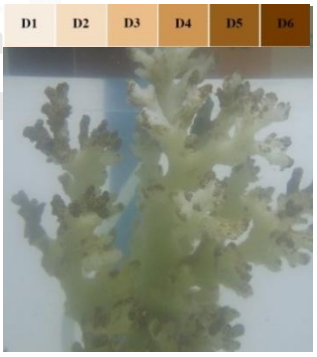


ชั่วโมงที่ 72

ค) ความเค็มต่ำที่สุด 10 psu

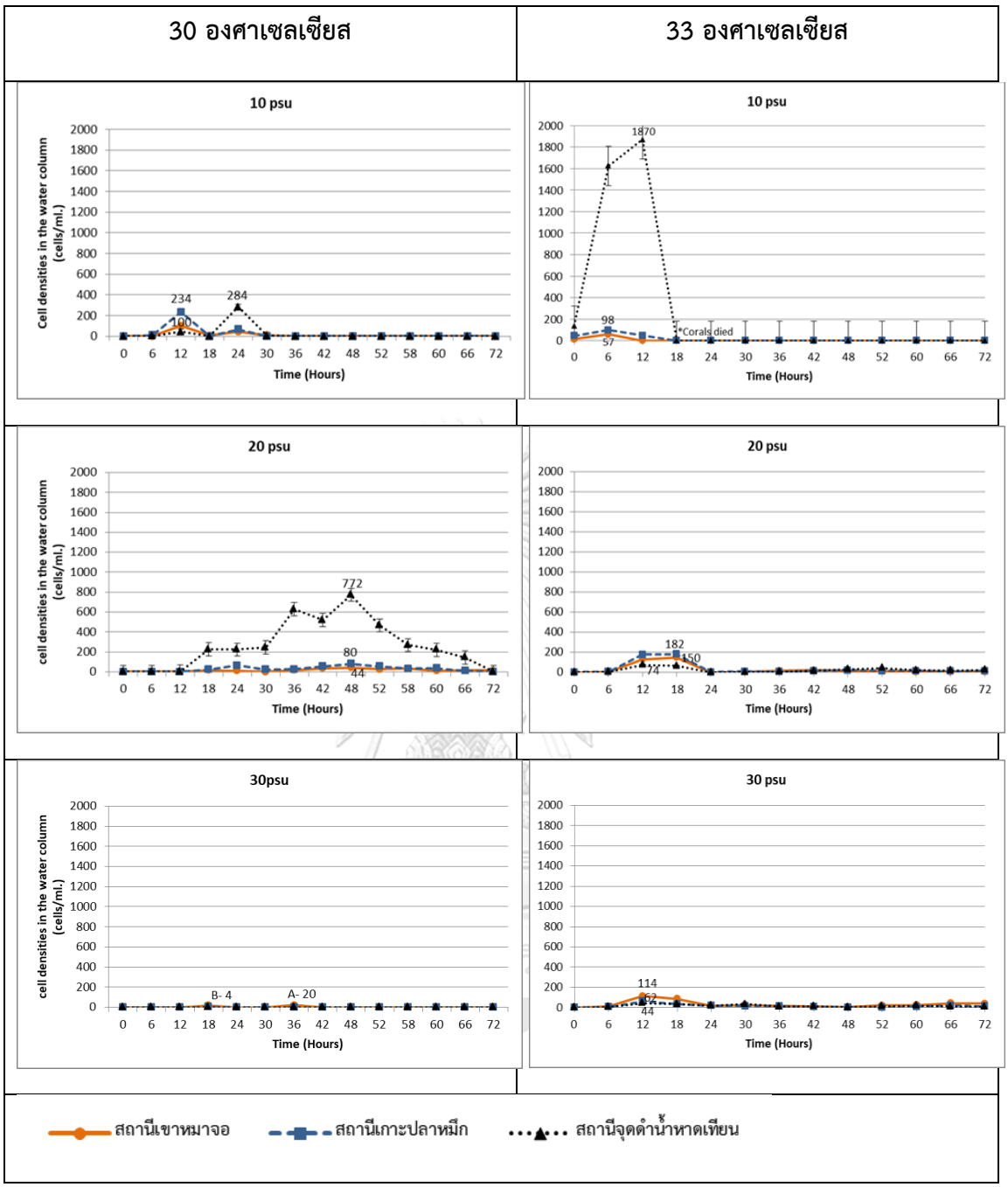


ชั่วโมงที่ 0 (เมื่อปรับเป็น 33 °C)



ชั่วโมงที่ 72

รูปที่ 25 กิ่งปะการังจากสถานี C จุดดำน้ำหาดเทียน ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเค็ม 3 ระดับ ได้แก่ ก) ความเค็มควบคุม 30 psu ข) ความเค็ม 20 psu และ ค) ความเค็ม 10 psu



รูปที่ 26 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีในมวลน้ำที่ระดับอุณหภูมิสูง (30 และ 33 องศาเซลเซียส) ภายใต้ระดับความเค็ม 10, 20 และ 30 psu ตามลำดับ

4. การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*

4.1 ชุดการทดลองที่ 1

เมื่อปรับอุณหภูมิถึงระดับ 33 องศาเซลเซียส พบว่า ปะการังในตู้ทดลองเริ่มเครียด โดยปะการังหุบโพลิปตลอดเวลา

ปะการังตู้ A – เมื่อปะการังอยู่ภายใต้อุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง โดยไม่ให้ซูแซนเทลลี พบว่า ปะการังฟอกขาวโดยเนื้อเยื่อหลุดร่อนจนเห็นโครงร่างหินปูนบริเวณปลายกิ่งและพบว่าหลังจากค่อยๆปรับอุณหภูมิลงมา วันที่ 2 ปะการังตายโดยเห็นโครงร่างหินปูน 50% (รูปที่ 27)

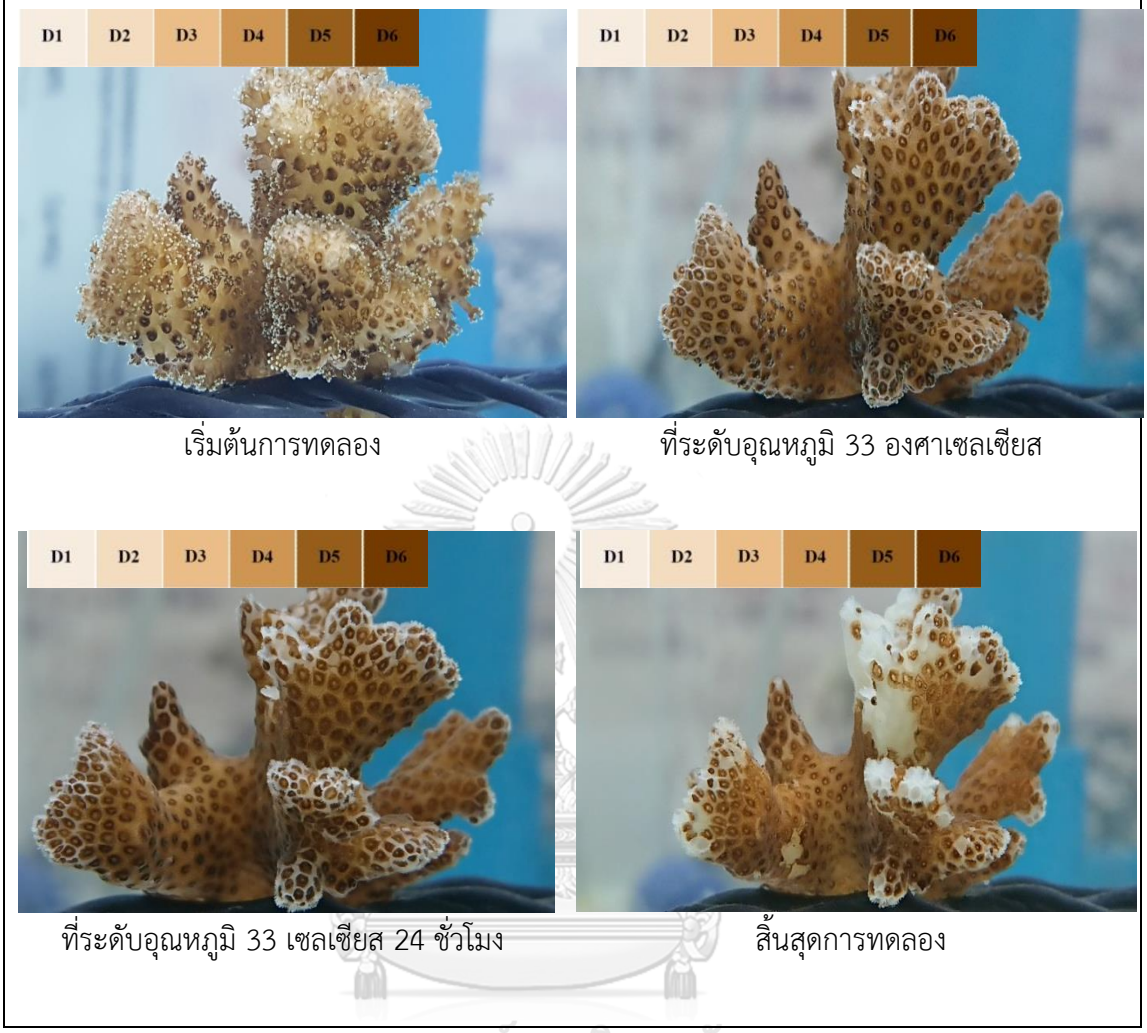
สำหรับปะการังตู้ B, C และ D เมื่อปรับอุณหภูมิถึงระดับ 33 องศาเซลเซียส มีการให้ซูแซนเทลลี หลังจากให้ซูแซนเทลลี 24 ชั่วโมง ยังไม่พบการฟอกขาว (แม้ว่าอุณหภูมิจะอยู่ที่ระดับ 33 องศาเซลเซียสก็ตาม) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ปรับอุณหภูมิลงมาที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส)

ปะการังตู้ B – ปะการังโผล่โพลิปออกมาทั้งกิ่ง เช่นเดียวกับเริ่มต้นการทดลอง (รูปที่ 28)

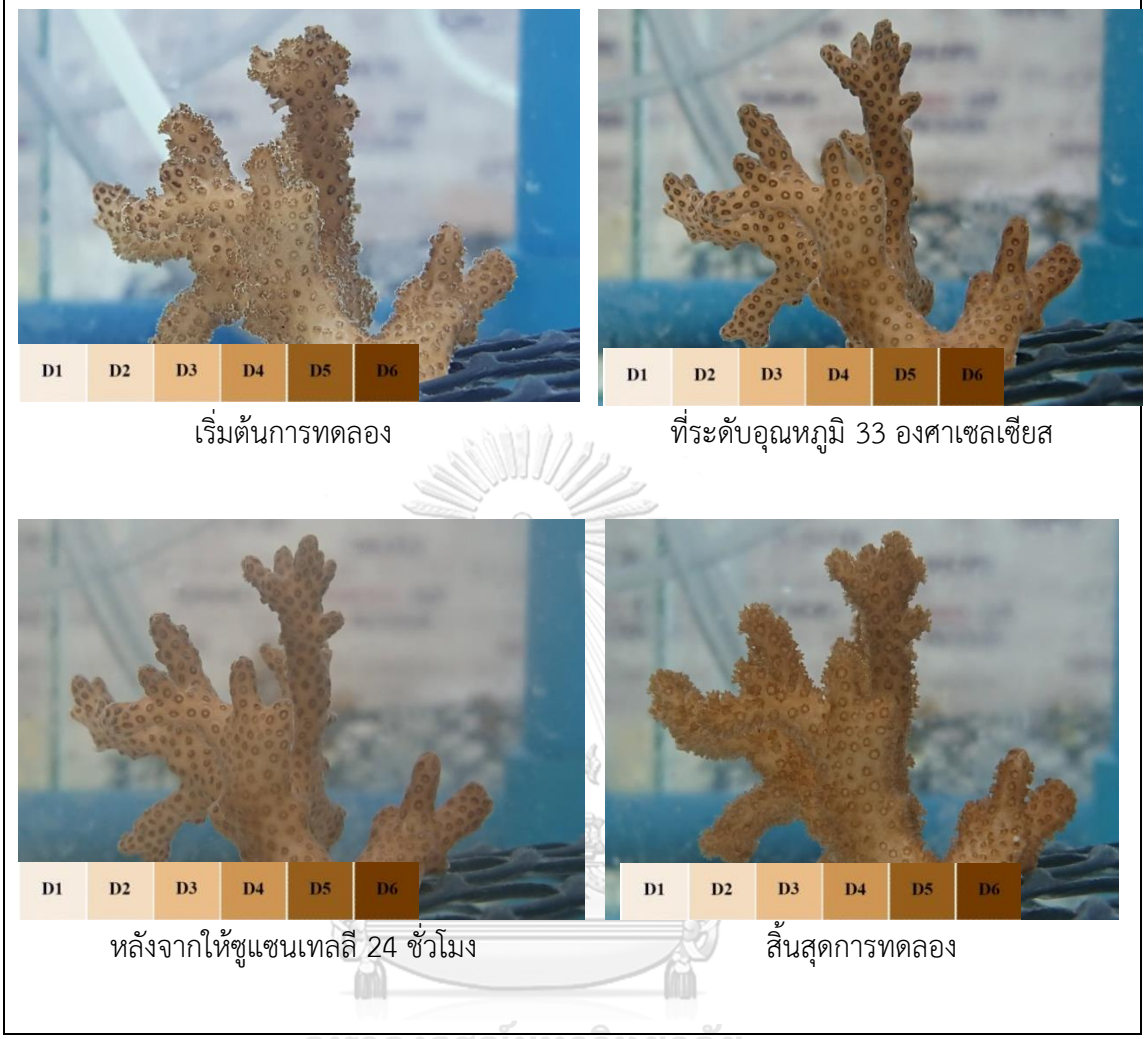
ปะการังตู้ C – เมื่อเปรียบเทียบกับกิ่งปะการังในช่วงที่ปะการังเกิดความเครียด บริเวณหนึ่งของกิ่งเปลี่ยนสีที่เข้มที่สุดจาก D4 เป็น D5 (รูปที่ 29)

ปะการังตู้ D – เมื่อเปรียบเทียบกับกิ่งปะการังในช่วงที่ปะการังเกิดความเครียด พื้นที่ส่วนใหญ่ของกิ่งปะการังมีสีเข้มขึ้น และ บริเวณหนึ่งของกิ่งเปลี่ยนสีที่เข้มที่สุดจาก D3 เป็น D5 (รูปที่ 30)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

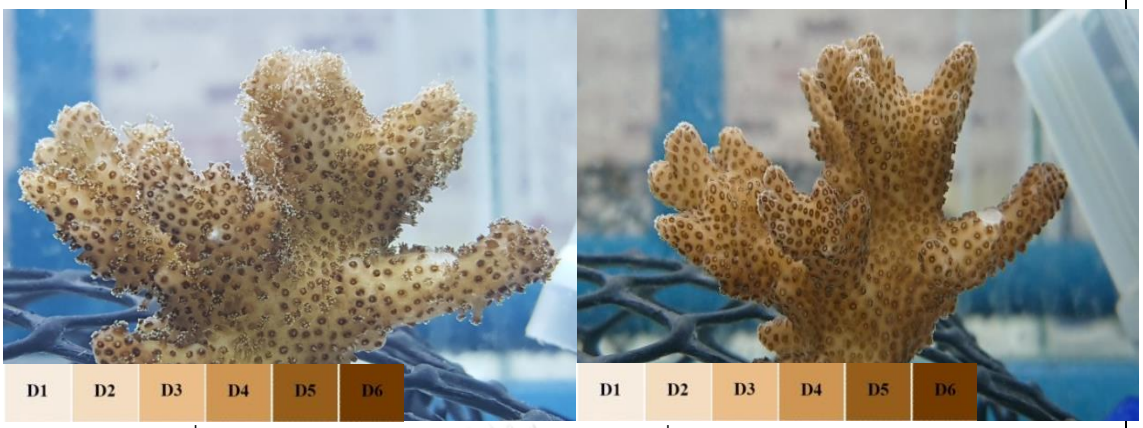


รูปที่ 27 กิ่งปะการังในชุดการทดลองที่ 1 ตู้ A (ควบคุม) ไม่มีการให้ซูแซนเทลลี ตั้งแต่เริ่มการทดลอง จนสิ้นสุดการทดลอง

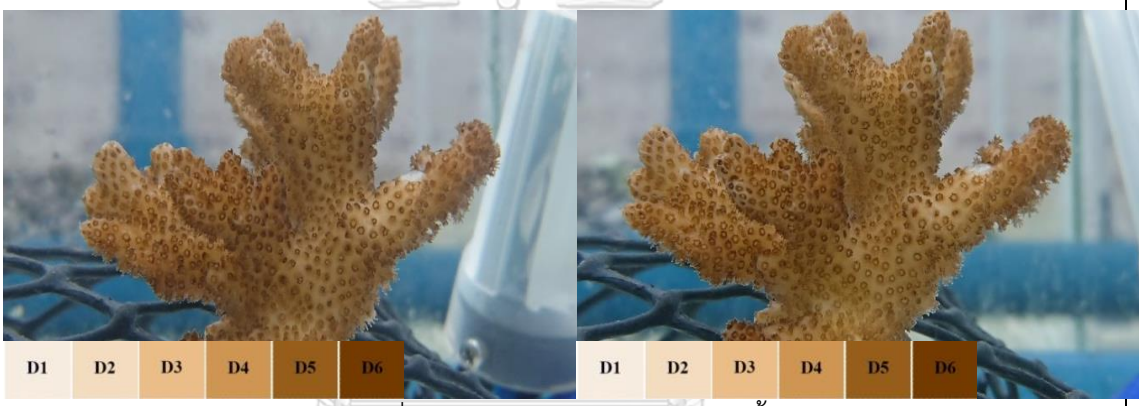


รูปที่ 28 กิ่งปะการังในชุดการทดลองที่ 1 ตู้ B ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ (ปรับตัวที่ 33 องศาเซลเซียส) ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



เริ่มต้นการทดลอง ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส



หลังจากให้ซูแซนเทลลี 24 ชั่วโมง สิ้นสุดการทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 29 ปะการังในชุดการทดลองที่ 1 ตู้ C ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 30 ปะการังในชุดการทดลองที่ 1 ตู้ D ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง

4.2.ชุดการทดลองที่ 2

เมื่อปรับอุณหภูมิถึงระดับ 33 องศาเซลเซียส ปะการังในตู้ทดลองเริ่มเครียด โดยปะการังหุบโพลิปตลอดเวลา

ปะการังตู้ A – เมื่อปะการังอยู่ภายใต้อุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง โดยไม่ให้ซูแซนเทลลี พบว่า ปะการังฟอกขาวโดยเนื้อเยื่อหลุดร่อนจนเห็นโครงร่างหินปูนประมาณบริเวณปลายกิ่งและพบว่าปะการังตาย เมื่ออยู่ที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียสต่อเนื่องเป็นเวลา 36 ชั่วโมง (รูปที่ 31)

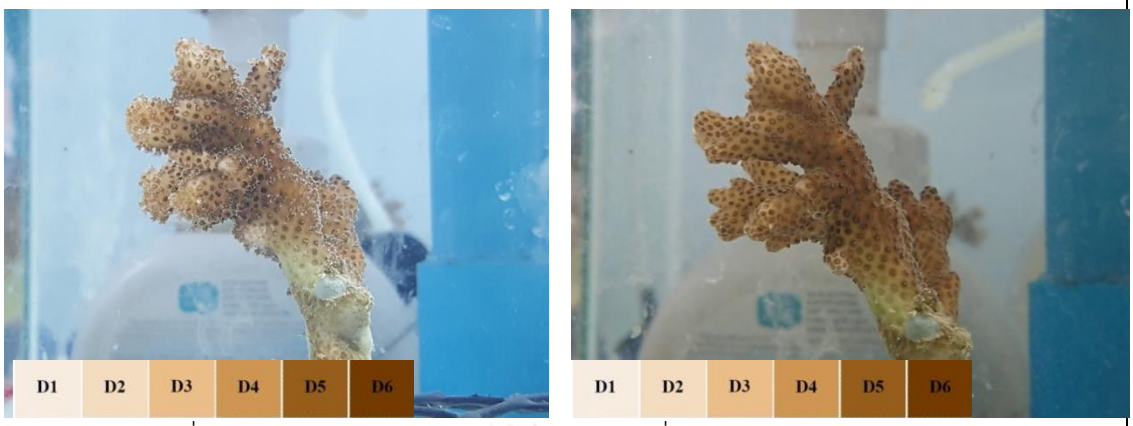
สำหรับปะการังตู้ B, C และ D เมื่อปรับอุณหภูมิถึงระดับ 33 องศาเซลเซียส มีการให้ซูแซนเทลลี หลังจากให้ซูแซนเทลลี 24 ชั่วโมง ยังไม่พบการฟอกขาว (แม้ว่าอุณหภูมิจะอยู่ที่ระดับ 33 องศาเซลเซียส ก็ตาม)

ปะการังตู้ B – เมื่อเปรียบเทียบกับกิ่งปะการังในช่วงที่ปะการังเกิดความเครียด บริเวณหนึ่งของกิ่งเปลี่ยนสีที่เข้มที่สุดจาก D3 เป็น D4 และเมื่อระดับอุณหภูมิอยู่ที่ 33 องศาเซลเซียสต่อไปอีก 2 วัน ประการังตายโดยเนื้อเยื่อหลุดร่อนจนเห็นโครงร่างหินปูนประมาณ 25% (รูปที่ 32)

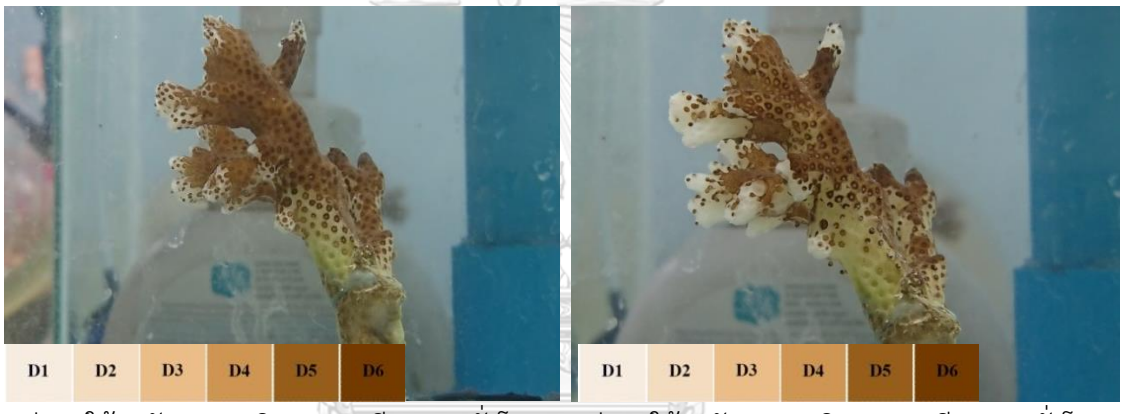
ปะการังตู้ C – เมื่อเปรียบเทียบกับกิ่งปะการังในช่วงที่ปะการังเกิดความเครียด บริเวณหนึ่งของกิ่งเปลี่ยนสีที่เข้มที่สุดจากจาก D3 เป็น D4 และเมื่อระดับอุณหภูมิอยู่ที่ 33 องศาเซลเซียสต่อไปอีก 2 วัน ประการังตายโดยเนื้อเยื่อหลุดร่อนจนเห็นโครงร่างหินปูนประมาณ 25% (รูปที่ 33)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ปะการังตู้ D - เมื่อเปรียบเทียบกับกิ่งปะการังในช่วงที่ปะการังเกิดความเครียด บริเวณหนึ่งของกิ่งเปลี่ยนสีที่เข้มที่สุดจากจาก D2 เป็น D3 และเมื่อระดับอุณหภูมิอยู่ที่ 33 องศาเซลเซียสต่อไปอีก 1 วัน ประการังตายโดยเนื้อเยื่อหลุดร่อนจนเห็นโครงร่างหินปูนประมาณ 50% (รูปที่ 34)



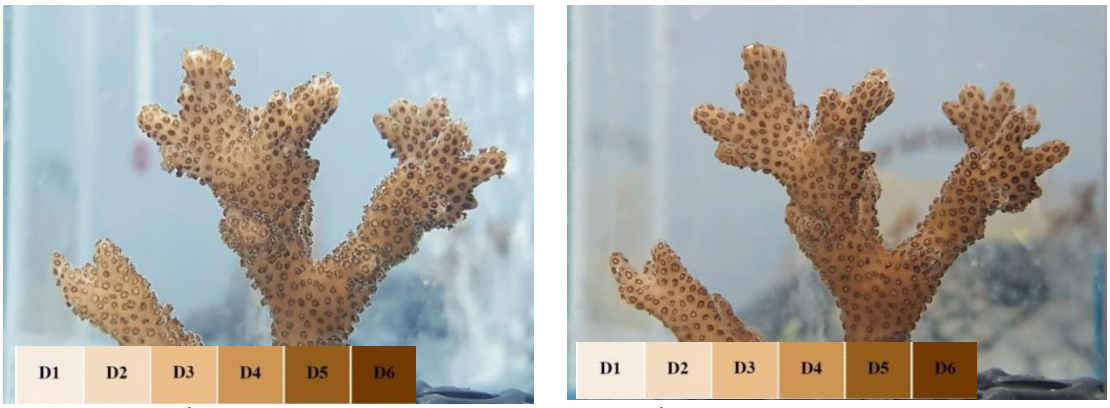
เริ่มต้นการทดลอง ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส



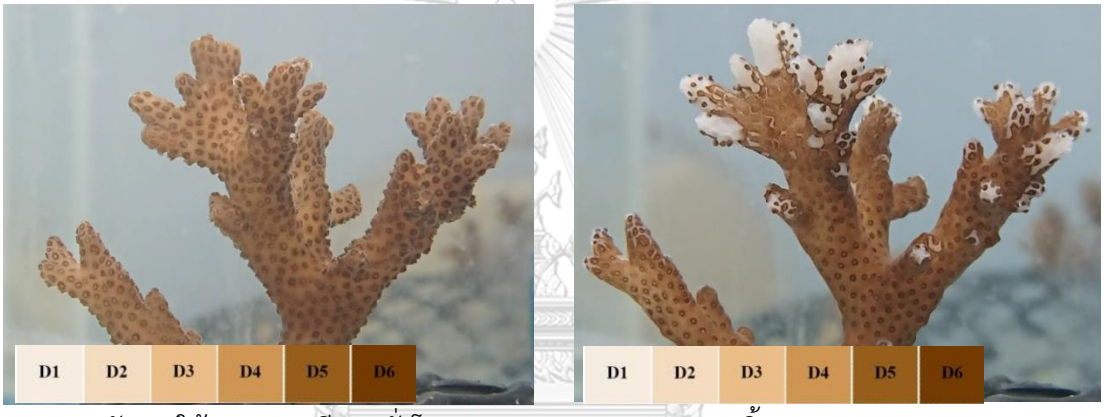
อยู่ภายใต้ระดับอุณหภูมิ 33 เซลเซียส 24 ชั่วโมง อยู่ภายใต้ระดับอุณหภูมิ 33 เซลเซียส 36 ชั่วโมง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 31 ปะการังในชุดการทดลองที่ 2 ตู้ A (ควบคุม) ไม่มีการให้ซูแซนเทลลี ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง จนสิ้นสุดการทดลอง



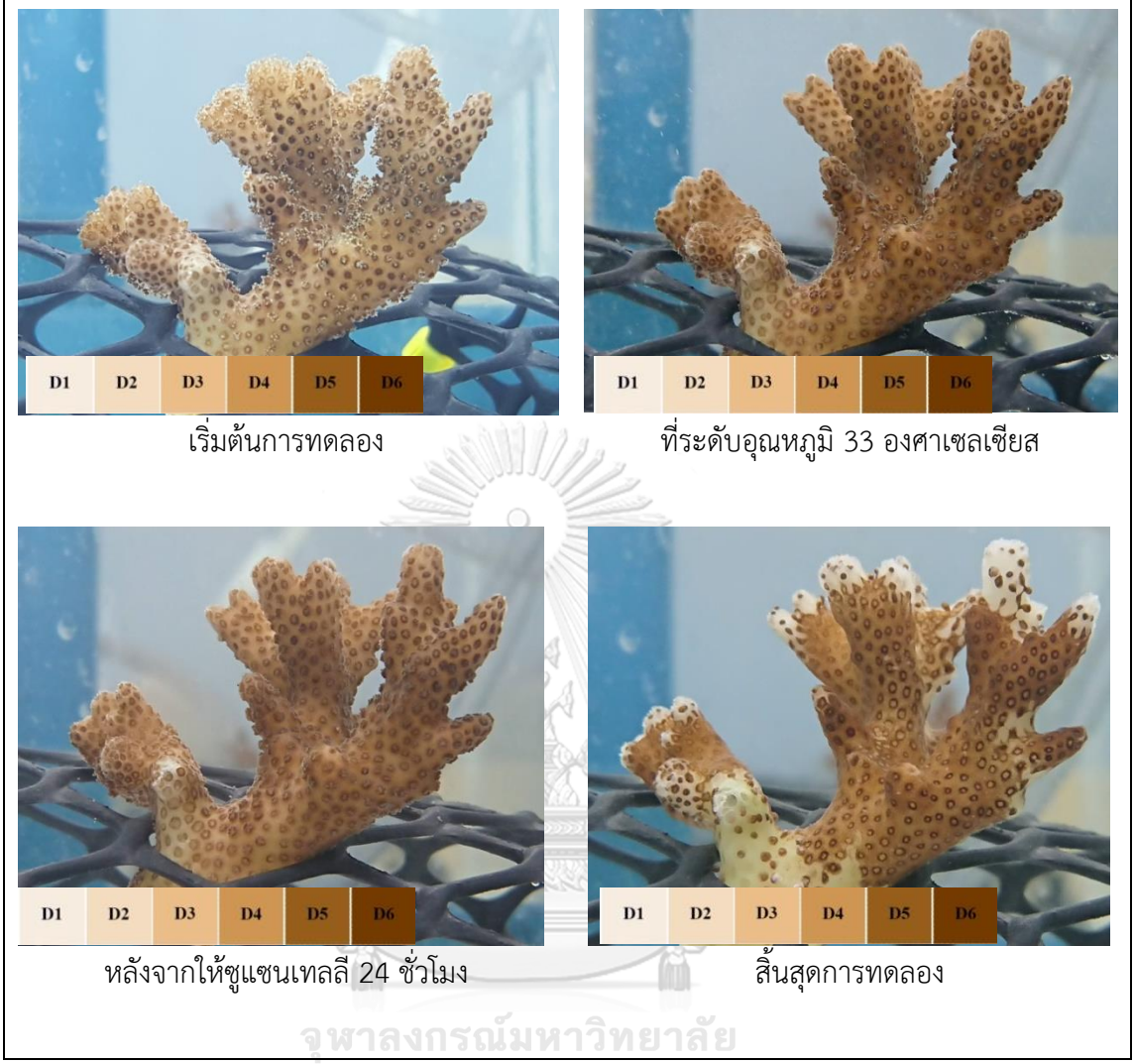
เริ่มต้นการทดลอง ที่ระดับอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส



หลังจากให้ซูแซนเทลลี 24 ชั่วโมง สิ้นสุดการทดลอง

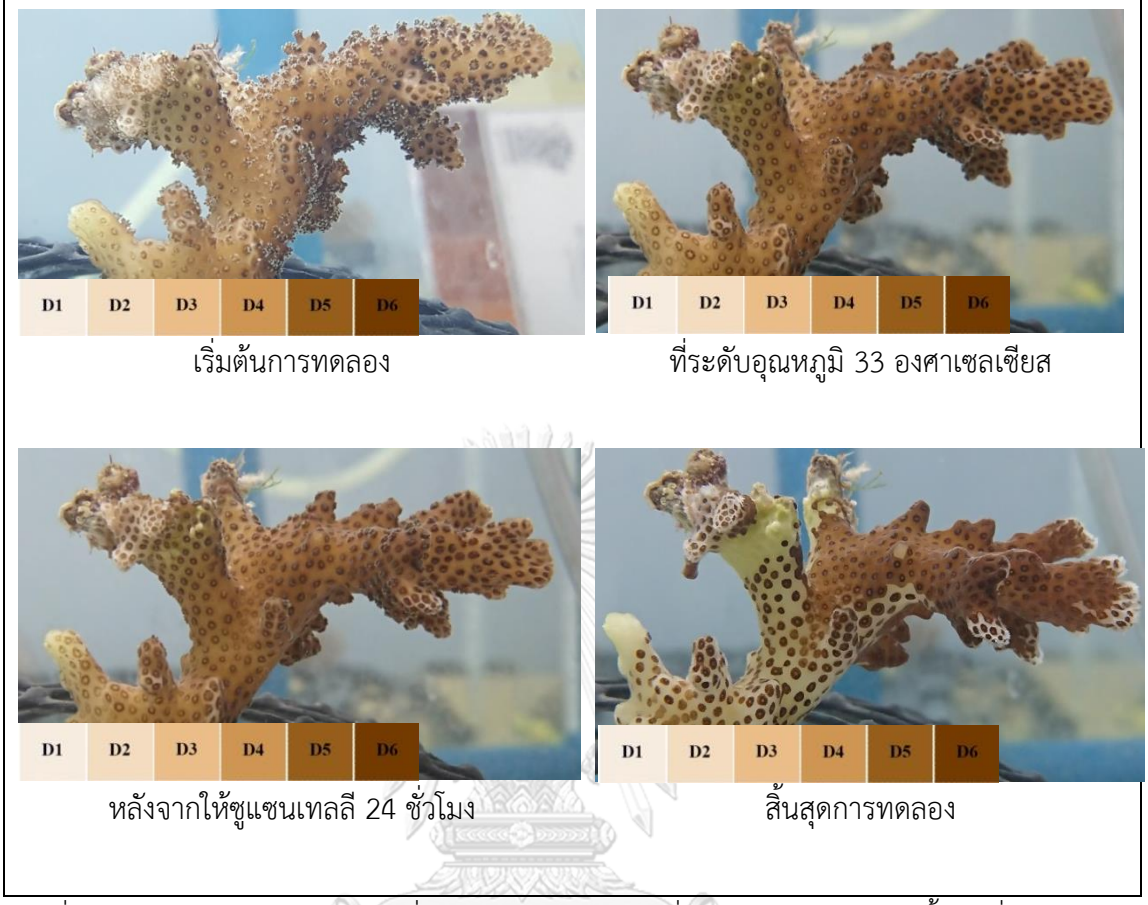
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 32 กิ่งปะการังในชุดการทดลองที่ 2 ตู้ B ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ (ปรับตัวที่ 33 องศาเซลเซียส) ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 33 กิ่งปะการังในชุดการทดลองที่ 2 ตู้ C ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง

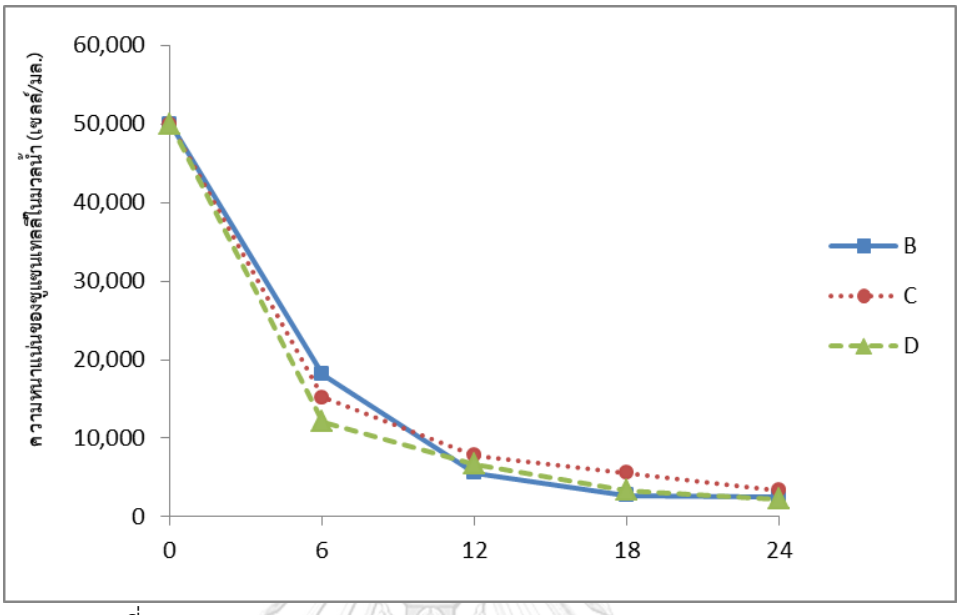


รูปที่ 34 ปะการังในชุดการทดลองที่ 2 ตู้ D ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง

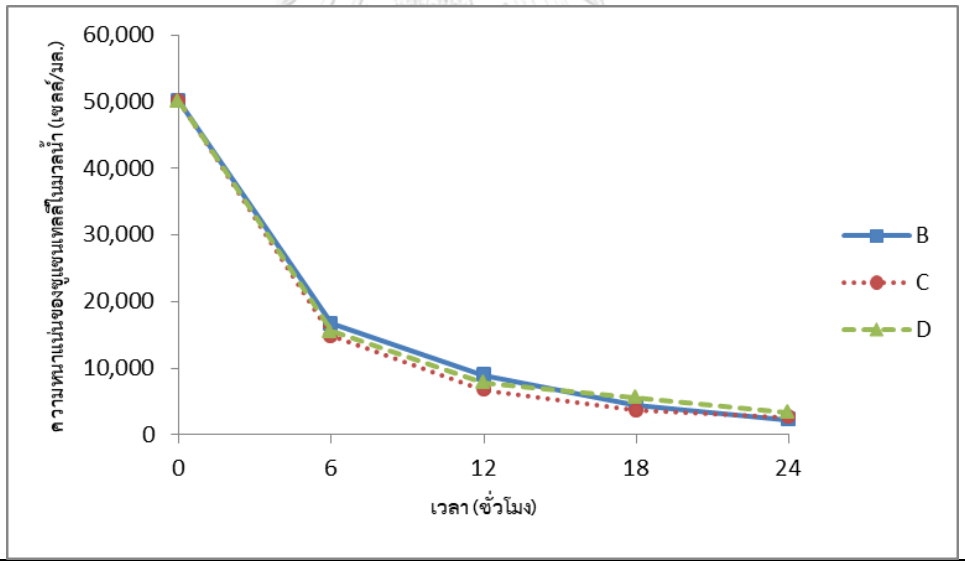
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หลังมีการให้ซูแซนเทลลี 50,000 เซลล์ต่อมิลลิตร ในตู้ B, C และ D ทั้ง 2 ชุดการทดลอง พบว่าซูแซนเทลลีในมวลน้ำลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วในช่วง 6 ชั่วโมงแรกหลังการให้ซูแซนเทลลี และค่อยๆลดจำนวนลงเรื่อยๆ จนถึงชั่วโมงที่ 24 (รูปที่ 35) ในทุกกลุ่มการทดลอง โดยพบซูแซนเทลลีบางส่วนตกตะกอนอยู่ที่ก้นตู้การทดลอง

ก). ชุดการทดลองที่ 1



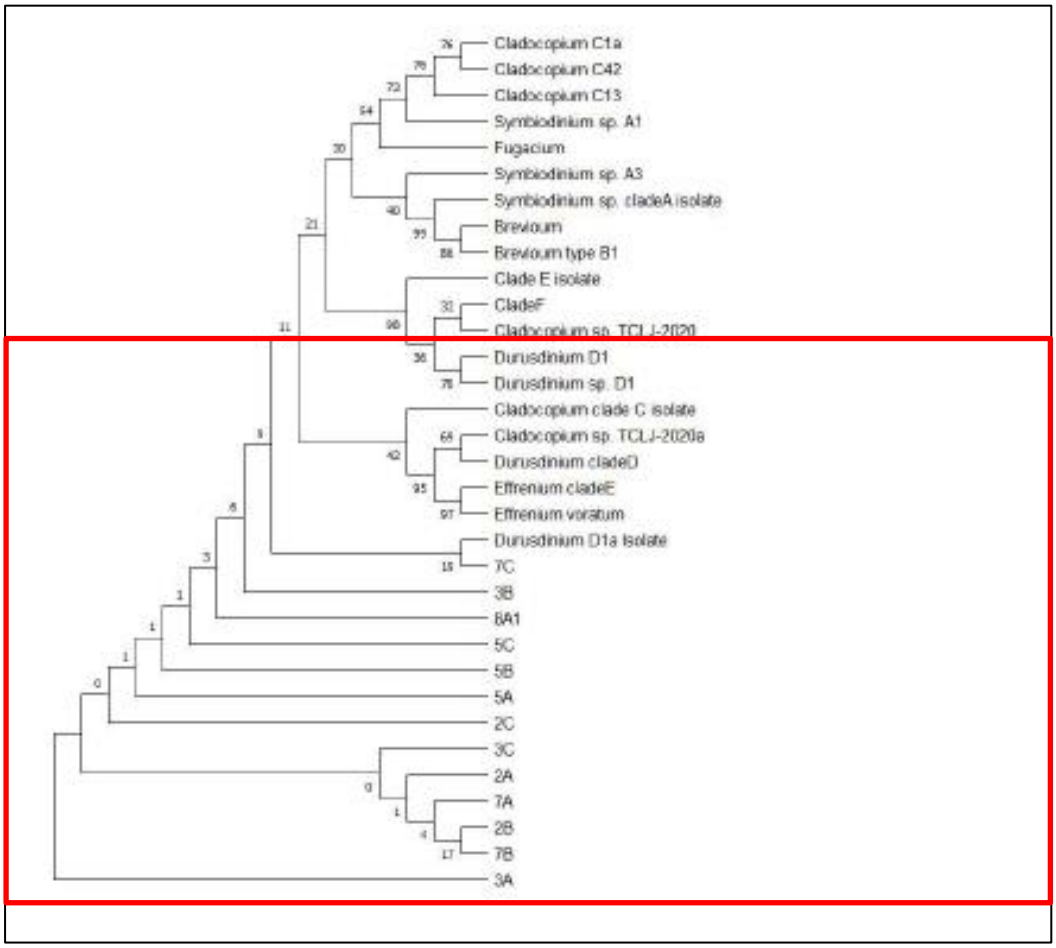
ข). ชุดการทดลองที่ 2



รูปที่ 35 ความหนาแน่นของซูแซนเทลลีในมวลน้ำหลังมีการให้ซูแซนเทลลี ในตู้ B, C และ D ของ ก). ชุดการทดลองที่ 1 และ ข). ชุดการทดลองที่ 2 สุ่มนับทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5. การศึกษาสายพันธุ์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลี

จากการทำแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างซูแซนเทลลีในกิ่งปะการังดอกกะหล่ำที่ศึกษา พบว่าในตัวอย่างกิ่งปะการังที่ทำการศึกษาทั้งก่อนและหลังการเกิดฟอกขาว และหลังการใช้ซูแซนเทลลีเพื่อช่วยในการฟื้นตัวของปะการังฟอกขาว พบสาหร่ายซูแซนเทลลีสกุล *Durusdinium* spp. (D1) ทั้งหมด (รูปที่ 36)



รูปที่ 36 แผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างซูแซนเทลลีในกิ่งปะการังดอกกะหล่ำที่ศึกษา

บทที่ 5
อภิปรายผลการศึกษา

1. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี

ซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ มีอัตราการเติบโตและตอบสนองต่ออุณหภูมิและความเค็มแตกต่างกัน สอดคล้องการกับศึกษาของ (Rowan 2002) และ (Iglesias-Prieto et al. 2004) ซึ่งได้รายงานว่าซูแซนเทลลีมีความหลากหลาย และเติบโตแตกต่างกันไปตามชนิดของผู้ให้อาศัย

ในการทดลองนี้ พบว่า ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเลมีค่าอัตราการเติบโตสูงที่สุดเท่ากับ 0.683 และเมื่ออยู่ภายใต้อุณหภูมิสูงที่สุดของการทดลอง 33 องศาเซลเซียส ซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเลสามารถอยู่ได้นานที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดอื่น (12 วัน) จากข้อเท็จจริงที่สังเกตได้จากการเก็บตัวอย่าง พบว่า ดอกไม้ทะเลที่นำมาศึกษาพบอยู่ในระดับน้ำที่ตื้นกว่าสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น และอยู่บริเวณใกล้ชายฝั่ง ทั้งดอกไม้ทะเลและซูแซนเทลลีผ่านการปรับตัวอยู่ในสภาพแวดล้อมระดับน้ำตื้น ซึ่งอุณหภูมิน้ำทะเลจะสูงกว่าที่ระดับลึกลงไป และได้รับการรบกวนจากคลื่น และกิจกรรมชายฝั่งด้วย ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว ผู้ให้อาศัยรวมถึงซูแซนเทลลีที่อยู่ในบริเวณ น้ำตื้นจะสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าผู้ให้อาศัยที่อยู่ในบริเวณลึกลงไป (Iglesias-Prieto et al. 2004)

จากผลการศึกษาพบว่า ซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยทุกชนิดมีค่าอัตราการเติบโตสูงที่สุดเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะควบคุม (อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30 psu) หากความเค็มลดต่ำลงเป็น 20 psu หรืออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย เป็น 30 องศาเซลเซียส พบว่า ซูแซนเทลลียังสามารถเติบโตได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sakami (2000) ซึ่งรายงานว่า ซูแซนเทลลีจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* สามารถเติบโตได้ในช่วงระดับความเค็ม 15-20 psu หากอุณหภูมิน้ำทะเลในขณะนั้นอยู่ในช่วงอุณหภูมิปกติ (28-32 องศาเซลเซียส)

ในการทดลองครั้งนี้ พบว่า ซูแซนเทลลีไม่สามารถเติบโตได้ที่ระดับอุณหภูมิสูงที่สุดของการทดลอง (33 องศาเซลเซียส) ที่ทุกระดับความเค็ม และ ที่ระดับความเค็มต่ำสุดของการทดลอง (10 psu) ภายใต้ทุกระดับอุณหภูมิ แสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส และความเค็มต่ำ 10 psu ส่งผลต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี นอกจากนี้ซูแซนเทลลีที่พบในกลุ่มการทดลองนี้ เซลล์มีสี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จางลงเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ซูแซนเทลลีที่เลี้ยงในสภาวะควบคุม โดยสูญเสียรงควัตถุในเซลล์อย่างชัดเจน สอดคล้องกับการศึกษาของ (WARNER, FITT, and SCHMIDT 1996) และ (Ferrier-Pagès, Gattuso2, and Jaubert1 1999) ที่พบว่าในสภาวะอุณหภูมิสูงและความเค็มต่ำ ส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในเซลล์ลดลง และการศึกษาของ (Rodolfo-Metalpa et al. 2006) ที่พบว่ารงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลี (ในปะการัง *Cladocora caespitosa*) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับอุณหภูมิสูง 32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ การศึกษาของ (Strychara and Sammarco 2009) แสดงให้เห็นว่า ภายใต้อุณหภูมิสูง 34 องศาเซลเซียส เซลล์ซูแซนเทลลีจะตายโดยมีขนาดเล็กลง ออร์แกเนลภายในเซลล์หดตัว และเยื่อหุ้มเซลล์แตกออก

และหากเมื่อเปรียบเทียบในทุกกลุ่มการทดลองแล้ว เซลล์ซูแซนเทลลีมีความหนาแน่นเซลล์ต่ำที่สุด เมื่ออยู่ที่อุณหภูมิสูงที่สุด 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง 10 psu ชี้ให้เห็นว่า ผลกระทบต่อซูแซนเทลลีจะรุนแรงขึ้นเมื่อได้รับผลกระทบจากสองปัจจัยร่วมกัน ได้แก่ อุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส เมื่ออยู่ภายใต้ระดับความเค็มต่ำ 10 psu

2. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ปะการังฟอกขาวมากที่สุดที่ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง (10 psu) ภายใต้อุณหภูมิทุกระดับ โดยพบว่า อัตราการฟอกขาวที่สูงที่สุดของการทดลอง (50-90%) และความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลีในมวลน้ำมากที่สุดของการทดลอง (1,870 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) เกิดขึ้นภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ระดับความเค็ม 10 psu ชี้ให้เห็นว่า ปะการังจะได้รับผลกระทบมากที่สุดเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส และระดับความเค็มต่ำ 10 psu และผลกระทบจะรุนแรงมากขึ้นเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะทั้งสอง ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ (Hoegh-Guldberg and JasonSmith 1989) ที่รายงานว่า เมื่ออุณหภูมิน้ำทะเลเพิ่มขึ้นจากปกติ 27 เป็น 32 องศาเซลเซียส ซูแซนเทลลีในปะการังมีสีจางลงและมีจำนวนต่อพื้นที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และหากเพิ่มอุณหภูมิเป็น 34 องศาเซลเซียส ปะการังจะตายภายใน 8 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่าในปะการัง *Acropora millepora* บริเวณชายฝั่งออสเตรเลีย จะฟอกขาวและตายมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส แม้ว่าจะมีปะการังจะมีซูแซนเทลลีสกุล *Durusdinium* (clade D) ซึ่งถือว่าเป็นสกุลที่ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมมากที่สุดก็ตาม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

(Berkelmans and Oppen 2006) เนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะไปส่งผลต่อการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีนั่นเอง โดยอุณหภูมิ 32 และ 34 องศาเซลเซียสจะส่งผลต่อการสังเคราะห์แสงอย่างชัดเจน (WARNER, FITT, and SCHMIDT 1996) โดยเซลล์จะสร้าง Reactive Oxygen Species (ROS) เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และระบบแสง 2 ของกระบวนการสังเคราะห์แสง และเมื่ออยู่ที่ระดับอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานานขึ้น พบว่าลิพิด โปรตีน และ DNA ก็จะถูกทำลายด้วย ทำให้เซลล์เสียหาย ส่งผลให้เซลล์ตายหรือถูกขับออกจากปะการัง (Lesser 2010)

เช่นเดียวกับความเค็มต่ำที่ส่งผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงได้ง่ายและมากกว่าความเค็มที่เพิ่มขึ้น ผลจากการศึกษาความเค็มที่ต่ำลงต่ออัตราการออกจากผู้ให้อาศัยของซูแซนเทลลีในดอกไม้ทะเล *Anthopleura elegantissima* พบว่าซูแซนเทลลีจะออกจากดอกไม้ทะเล *Anthopleura elegantissima* มากขึ้นเมื่อสัมผัสกับน้ำทะเลที่มีความเค็มต่ำเป็นระยะเวลานานขึ้น (ENGEBRETSON and MARTJN 1994) และซูแซนเทลลีจากปะการัง *Stylophora pistillata* จะอ่อนไหวต่อความเค็มที่เปลี่ยนแปลงไปแม้ในช่วงแคบ เนื่องจากทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลี ลดต่ำลง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยความเค็มที่ลดต่ำลงมีผลมากกว่าความเค็มที่เพิ่มสูงขึ้น (Ferrier-Pagès, Gattuso2, and Jaubert1 1999)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า เมื่ออยู่ภายใต้ความเค็มควบคุม (33 psu) พบกิ่งปะการังเปลี่ยนสีจากระดับ D6 เป็น D4 แต่ไม่พบการฟอกขาวถึงระดับ D1 ตลอดการทดลอง 72 ชั่วโมง แม้ว่าจะอยู่ภายใต้ระดับอุณหภูมิสูง 33 องศเซลเซียสก็ตาม ในทางตรงกันข้าม พบปะการังฟอกขาวถึงระดับ D1 50-70% เมื่ออยู่ภายใต้ความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง 10 psu แม้ว่าจะอยู่ภายใต้ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียสก็ตาม แสดงให้เห็นว่า ระดับความเค็มต่ำส่งผลกระทบต่อการปล่อยซูแซนเทลลีออกมาในมวลน้ำและปะการังฟอกขาวมากกว่าผลจากอุณหภูมิ ซึ่งการศึกษานี้อาจแตกต่างจากผลการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า อุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการฟอกขาว

ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งทำการศึกษาในตู้เลี้ยงที่สามารถบรรจุน้ำทะเลได้อย่างจำกัด นอกจากนี้ น้ำทะเลในแต่ละตู้เลี้ยงอยู่ภายใต้การควบคุมและมีความ

สม่ำเสมอตลอดการทดลอง ในทางตรงกันข้าม โดยธรรมชาติปะการังดอกกะหล่ำมีการกระจายตัวในวงกว้างทั้งแนวราบและแนวดิ่ง ได้รับอิทธิพลจากคลื่น กระแสน้ำระหว่างน้ำขึ้นน้ำลง การแปรผันของความเข้มแสง อนุภาคแขวนลอย และปัจจัยอื่นๆ ซึ่งเป็นความแตกต่างของธรรมชาติและห้องปฏิบัติการ และการศึกษาในห้องปฏิบัติการครั้งนี้ ศึกษาแค่ปัจจัยอุณหภูมิและความเค็มเท่านั้น

3. การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ซูแซนเทลลีมีส่วนช่วยในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ที่ฟอกขาวไม่เกิน 5% ในห้องปฏิบัติการ หลังจากที่ปะการังเผชิญความเครียดที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส โดยหลังจากให้ซูแซนเทลลีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แม้ว่าบางกลุ่มการทดลอง ปะการังยังไม่โผล่โพลิป แต่มีบางส่วนของกิ่งปะการังมีสีเข้มขึ้น และสามารถฟื้นตัวจากการฟอกขาวได้หากระดับอุณหภูมิค่อยๆลดลงจนถึงระดับควบคุม (27 องศาเซลเซียส) สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาที่มีรายงานว่า ผู้ให้อาศัยที่ฟอกขาวสามารถรับซูแซนเทลลีจากมวลน้ำเพื่อฟื้นตัวจากการฟอกขาวได้ การศึกษาของ (Kinzie et al. 2001) พบว่า ดอกไม้ทะเล *Aiptasia pulchella* ที่ฟอกขาวแล้ว สามารถรับซูแซนเทลลีเข้ามาใหม่ได้ แม้ว่าจะมีความเข้มข้นต่ำเพียงแค่ 10 เซลล์ต่อมิลลิลิตรก็ตาม พวกเขายังพบว่า ดอกไม้ทะเลที่ฟอกขาวนี้หากได้รับซูแซนเทลลีความเข้มข้นสูงจะสามารถฟื้นตัวได้เร็วกว่ารับซูแซนเทลลีที่มีความเข้มข้นต่ำ

สำหรับปะการังก็เช่นเดียวกัน จากการสำรวจแนวปะการังบริเวณอ่าว Palk มหาสมุทรอินเดีย พบว่า ในช่วงเวลาก่อนเกิดฟอกขาวและภายหลังจากฟื้นตัวจากการฟอกขาวแล้ว ปะการังมีองค์ประกอบของซูแซนเทลลีที่เปลี่ยนไปอย่างชัดเจนในทุกกลุ่มของปะการังที่ศึกษา โดยช่วงก่อนเกิดการฟอกขาว พบซูแซนเทลลีสกุล *Cladocopium* (clade C) เป็นกลุ่มเด่น แต่ภายหลังจากการฟื้นตัวหลังการฟอกขาวแล้ว พบซูแซนเทลลีในสกุล *Durusdinium* (clade D) เป็นกลุ่มเด่น แสดงให้เห็นว่าปะการังสามารถรับซูแซนเทลลีใหม่จากมวลน้ำเพื่อใช้ในการฟื้นตัวจากการฟอกขาวได้ (Thinesh et al. 2019)

สอดคล้องกับการศึกษาของ (Coffroth et al. 2010) ที่ได้ศึกษาความสามารถของปะการังในการรับซูแซนเทลลีจากสิ่งแวดล้อมภายนอก โดยการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่แสดงให้เห็นว่าปะการังแข็งบางโคโลนี สามารถรับซูเทลลีจากมวลน้ำหลังเกิดการฟอกขาวได้ แต่การรับซูแซนเทลลีใหม่นี้เป็นเพียงชั่วคราวเท่านั้น อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าปะการังมีความสามารถในการ

ปรับตัว และอาจจะเป็นความหวังสำหรับการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อช่วยให้ปะการังอยู่รอดหากน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้นในอนาคตได้

4. การศึกษาสายพันธุ์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลี

จากการทำแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของตัวอย่างซูแซนเทลลีในกิ่งปะการังดอกกะหล่ำที่ใช้ศึกษา พบสาหร่ายซูแซนเทลลีสกุล *Durusdinium* spp. (D1) ในทุกกลุ่มการทดลอง เนื่องจากสาหร่ายในสกุล *Durusdinium* spp. เป็นชนิดเด่นในปะการังหลายชนิด ซึ่งแพร่กระจายทั่วไปบริเวณจังหวัดชลบุรีและระยอง (นรินทร์รัตน์ คงจันทร์ตรี และคณะ, 2560) โดยความหลากหลายชนิดของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการังแข็งในบริเวณนี้ค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนชนิดของสาหร่ายซูแซนเทลลีที่พบในปะการังแข็งที่เก็บจากทะเลอันดามัน (LaJeunesse et al. 2010)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 6
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

1. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลี

ซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยทุกชนิดมีค่าอัตราการเติบโตสูงที่สุดเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะควบคุม (อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30 psu) และซูแซนเทลลียังสามารถเติบโตได้ ในช่วงอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความเค็ม 20 psu

จากการทดสอบสหสัมพันธ์ พบว่า ความเค็มมีปฏิสัมพันธ์เชิงบวกกับความหนาแน่นของซูแซนเทลลีอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่อุณหภูมิมีปฏิสัมพันธ์เชิงลบกับความหนาแน่นของซูแซนเทลลีอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

เซลล์ซูแซนเทลลีที่อุณหภูมิสูงที่สุดของการทดลอง (33 องศาเซลเซียส) ในทุกระดับความเค็ม และเซลล์ซูแซนเทลลีที่เพาะเลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มต่ำที่สุดของการทดลอง (10 psu) ที่ทุกระดับอุณหภูมิ เซลล์มีสีจางลงเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติและสูญเสียรงควัตถุภายในเซลล์อย่างชัดเจน

2. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ในห้องปฏิบัติการ

ในการศึกษาครั้งนี้ อัตราการฟอกขาวที่สูงที่สุดของการทดลอง เกิดขึ้นภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ระดับความเค็ม 10 psu โดยพบความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลีในมวลน้ำมากที่สุดของการทดลองเช่นเดียวกัน และเซลล์ที่ถูกปล่อยออกมาในมวลน้ำสูญเสียองค์ประกอบภายในเซลล์ และมีสีจางเมื่อเทียบกับเซลล์ซูแซนเทลลีปกติ

3. การใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*

กิ่งปะการังที่เกิดความเครียดเมื่ออยู่ภายใต้อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส (ฟอกขาวไม่เกิน 5%) สามารถฟื้นตัวจากการฟอกขาวได้ เมื่อได้รับซูแซนเทลลีภายใน 24 ชั่วโมง และหลังจาก 24 ชั่วโมง อุณหภูมิค่อยๆลดลงจนกลับมาเป็นปกติ แต่หากอุณหภูมิยังคงอยู่ที่ระดับ 33 องศาเซลเซียสต่อไป กิ่งปะการังไม่สามารถฟื้นตัวได้แม้จะได้รับซูแซนเทลลีก็ตาม

4. การศึกษาสายพันธุ์สายพันธุ์สาหร่ายซูแซนเทลลี

สำหรับการศึกษาครั้งนี้ ในกิ่งปะการังที่ทำการศึกษาทั้งหมดในทุกกลุ่มการทดลอง พบสาหร่ายซูแซนเทลลีสกุล *Durusdinium* spp. (D1)

ซึ่งจากทุกการทดลองในการศึกษาครั้งนี้ ได้พิสูจน์สมมติฐานที่วางไว้ว่า ซูแซนเทลลีที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยสิ่งแวดล้อมสามารถช่วยในการฟื้นตัวของปะการังฟอกขาวได้

ข้อจำกัดของการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ ศึกษาเพียง 2 ปัจจัย ได้แก่อุณหภูมิและความเค็ม โดยศึกษากับปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* เพียงชนิดเดียว และซูแซนเทลลีที่นำมาศึกษา รวมทั้งซูแซนเทลลีที่พบในกิ่งปะการังที่ทำการทดลอง เป็นสกุล *Durusdinium* spp. (D1) ทั้งหมด โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้ สามารถเลี้ยงซูแซนเทลลีได้จากผู้ให้อาศัยหลายชนิด และสามารถเลี้ยงซูแซนเทลลีที่ผ่านการปรับตัวที่อุณหภูมิสูงได้ ซึ่งสามารถนำไปศึกษาเชิงลึกเกี่ยวกับการปรับตัวที่อุณหภูมิสูงต่อไป และสามารถเลี้ยงจำนวนมากเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการฟื้นตัวของปะการังฟอกขาวได้หากเกิดเหตุการณ์ฟอกขาวในธรรมชาติ

การศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและแนวทางในการคัดเลือกซูแซนเทลลีที่สามารถทนทานต่ออุณหภูมิและความเค็มในช่วงกว้าง มาใช้ในการฟื้นตัวของปะการังฟอกขาว หรือลดผลกระทบของการเกิดปะการังฟอกขาวในอนาคตได้ แต่จำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมทั้งเพิ่มระดับของอุณหภูมิและความเค็ม เพื่อให้ทราบจุดที่ส่งผลกระทบต่อซูแซนเทลลีและปะการัง รวมถึงทราบจุดที่ปะการังสามารถฟื้นตัวจากการฟอกขาวได้ชัดเจนมากขึ้น รวมทั้งเพิ่มปัจจัยในการศึกษา เพื่อให้ทราบผลของปัจจัยอื่นต่อซูแซนเทลลีและปะการังด้วย

สำหรับการทดลองการใช้ซูแซนเทลลีในการฟื้นตัวการฟอกขาวของปะการังดอกกะหล่ำหากมีซูแซนเทลลีสกุลอื่นมาศึกษาเปรียบเทียบ จะทำให้เห็นผลที่ชัดเจนขึ้น ทั้งในแง่มุมของการฟื้นตัว รวมถึงการจำเพาะเจาะจงของซูแซนเทลลีกับผู้ให้อาศัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก1 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกเห็ด *Fungia fungites* ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	1,111	3,333	1,111	1,852±1,283	3,333	4,444	3,333	3,703±641	11,111	10,000	11,111	10,741±641
4	5,556	6,667	4,444	5,556±1112	15,556	16,667	22,222	18,148±3571	24,444	22,222	24,444	23,703±1283
6	3,333	4,444	3,333	3,703±641	46,667	53,333	53,333	51,111±3849	113,333	100,000	96,667	103,333±8819
8	3,333	2,222	2,222	2,592±641	83,333	83,333	88,889	85,185±3208	350,000	405,556	338,889	364,815±35717
10	2,222	3,333	3,333	2,963±641	100,000	88,889	94,444	94,444±5556	366,667	377,778	366,667	370,371±6415
12	2,222	1,111	1,111	1,481±641	316,667	283,333	288,889	296,296±17859	444,444	466,667	433,333	448,148±16973
14	0	1,111	1,111	741±641	227,778	183,333	183,333	198,148±25660	388,889	344,444	400,000	377,778±29398

ตารางที่ ก2 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	1,111	2,222	2,222	10,741±641	5,556	4,444	6,667	5,556±1112	8,889	7,778	10,000	8,889±1111
4	1,111	2,222	2,222	23,703±1283	15,556	11,111	8,889	11,852±3395	32,222	36,667	31,111	33,333±2940
6	3,333	3,333	2,222	103,333±8819	56,667	60,000	50,000	55,556±5092	116,667	143,333	93,333	117,778±25018
8	1,111	1,111	1,111	364,815±35717	111,111	144,444	105,556	120,370±21033	511,111	405,556	416,667	444,445±58001
10	1,111	1,111	2,222	370,371±6415	161,111	150,000	155,556	155,556±5556	477,778	411,111	477,778	455,556±38490
12	0	1,111	1,111	448,148±16973	516,667	472,222	533,333	507,407±31590	377,778	400,000	388,889	388,889±11111
14	1,111	0	1,111	377,778±29398	250,000	300,000	250,000	266,667±28868	244,444	233,333	211,111	229,629±16972

ตารางที่ ก3 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	1,111	1,111	0	741±641	7,778	11,111	10,000	9,630±1697	3,333	2,222	2,222	2,592±641
4	1,111	0	0	370±641	5,556	8,889	8,889	7,778±1924	6,667	7,778	7,778	7,408±641
6	3,333	3,333	2,222	2,963±641	23,333	20,000	16,667	20,000±3333	46,667	30,000	40,000	38,889±8389
8	1,111	2,222	2,222	1,852±641	46,667	53,333	53,333	51,111±3849	188,889	177,778	200,000	188,889±11111
10	1,111	1,111	2,222	1,481±641	72,222	83,333	61,111	72,222±11111	300,000	344,444	355,556	333,333±29397
12	0	1,111	1,111	741±641	188,889	183,333	166,667	179,630±11565	411,111	277,778	366,667	351,852±67890
14	1,111	0	1,111	741±641	133,333	116,667	127,778	125,926±8486	377,778	344,444	400,000	374,074±27963

ตารางที่ ก4 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังอ่อน ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	2,222	1,111	2,222	1,852±641	7,778	6,667	5,556	6,667±1111	6,667	3,333	4,444	4,815±1698
4	3,333	3,333	2,222	2,963±641	15,556	12,222	16,667	14,815±2313	21,111	21,111	25,556	22,593±2566
6	2,222	3,333	3,333	2,963±641	36,667	30,000	40,000	35,556±5092	76,667	96,667	100,000	91,111±12620
8	2,222	3,333	1,111	2,222±1111	86,667	73,333	76,667	78,889±6939	383,333	405,556	372,222	387,037±16973
10	1,111	2,222	1,111	1,481±641	161,111	127,778	138,889	142,593±16972	455,556	555,556	588,889	533,334±69389
12	1,111	0	1,111	741±641	438,889	383,333	444,444	422,222±33793	411,111	277,778	366,667	351,852±67890
14	0	0	1,111	370±641	155,556	155,556	177,778	162,963±12830	300,000	322,222	333,333	318,518±16972

ตารางที่ ก5 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังเขากวาง *Acropora* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	7,778	7,778	6,667	7,408±641	1,111	0	1,111	741±641	6,667	3,333	4,444	4,815±1698
4	1,111	1,111	1,111	1,111±0	1,111	1,111	1,111	1,111±0	21,111	21,111	25,556	22,593±2566
6	1,111	2,222	1,111	1,481±641	13,333	11,111	11,111	11,852±1283	76,667	96,667	100,000	91,111±12620
8	2,222	3,333	1,111	2,222±1111	16,667	10,000	10,000	12,222±3849	383,333	405,556	372,222	387,037±16973
10	3,333	3,333	2,222	2,963±641	20,000	16,667	16,667	17,778±1924	455,556	555,556	588,889	533,334±69389
12	0	0	1,111	370±641	16,667	20,000	23,333	20,000±3333	411,111	277,778	366,667	351,852±67890
14	0	2,222	1,111	1,111±1111	16,667	20,000	20,000	18,889±1924	300,000	322,222	333,333	318,518±16972

ตารางที่ ก6 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังรังผึ้ง *Goniastrea* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	2,222	1,111	1,111	1,481±641	24,444	24,444	16,667	21,852±4490	1,111	1,111	2,222	1,481±641
4	1,111	2,222	0	1,111±1111	1,111	3,333	2,222	2,222±1111	1,111	2,222	1,111	1,481±641
6	2,222	2,222	0	1,481±1283	13,333	13,333	10,000	12,222±1924	13,333	10,000	6,667	10,000±3333
8	1,111	1,111	2,222	1,481±641	16,667	10,000	10,000	12,222±3849	36,667	46,667	50,000	44,445±6939
10	0	1,111	3,333	1,481±1697	23,333	20,000	10,000	17,778±6939	43,333	63,333	50,000	52,222±10183
12	1,111	0	1,111	741±641	100,000	77,778	83,333	87,037±11565	193,333	213,333	223,333	210,000±15275
14	2,222	0	0	741±1283	100,000	80,000	100,000	93,333±11547	100,000	77,778	83,333	87,037±11565

ตารางที่ ก7 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากหอยมือเสือ *Tridacna* sp.ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 27 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	2,222	1,111	1,111	1,481±641	5,556	5,556	6,667	5,926±641	4,444	6,667	4,444	5,185±1283
4	2,222	1,111	2,222	1,852±641	5,556	5,556	5,556	5,556±0	13,333	11,111	11,111	11,852±1283
6	2,222	3,333	3,333	2,963±641	26,667	23,333	20,000	23,333±3334	40,000	13,333	36,667	30,000±14530
8	2,222	3,333	1,111	2,222±1111	30,000	40,000	36,667	35,556±5092	86,667	73,333	76,667	78,889±6939
10	1,111	2,222	1,111	1,481±641	86,667	73,333	76,667	78,889±6939	150,000	143,333	143,333	145,555±3849
12	0	2,222	1,111	1,111±1111	277,778	288,889	255,556	274,074±16972	170,000	173,333	163,333	168,889±5092
14	0	0	0	0±0	100,000	77,778	83,333	87,037±11565	133,333	116,667	127,778	125,926±8486

ตารางที่ ก8 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกเห็ด *Fungia fungites* ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	6,666	6,666	7,777	7,036±641	22,222	20,000	22,222	21,481±1283	13,333	20,000	22,222	18,518±4626
4	8,889	12,222	11,111	10,741±1697	41,111	40,000	45,555	42,222±2939	68,888	64,444	76,666	69,999±6186
6	12,222	11,111	15,555	12,963±2313	164,444	166,666	160,000	163,703±3394	22,222	31,111	31,111	28,148±5132
8	13,333	15,555	14,444	14,444±1111	168,888	180,000	168,888	172,592±6416	42,222	28,888	36,666	35,925±6698
10	4,444	6,667	4,444	5,185±1283	176,666	187,777	191,111	185,185±7563	28,888	26,666	28,888	28,147±1283
12	0	0	0	0±0	330,000	320,000	322,222	324,074±5251	28,888	30,000	25,555	28,148±2313
14	0	0	0	0±0	227,778	183,333	183,333	198,148±25660	11,111	16,666	13,333	13,703±2796

ตารางที่ ก9 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	4,444	4,444	5,555	4,814±641	10,000	11,111	8,888	10,000±1112	20,000	17,777	24,444	20,740±3395
4	4,444	2,222	1,111	2,592±1697	20,000	24,444	26,666	23,703±3394	68,888	60,000	72,222	67,037±318
6	1,111	2,222	2,222	1,852±641	153,333	155,555	146,666	151,851±4626	31,111	33,333	35,555	33,333±2222
8	0	0	2,222	741±1283	163,333	158,888	157,777	159,999±2940	26,666	32,222	32,222	30,370±3208
10	0	0	0	0±0	175,555	175,555	164,444	171,851±6415	33,333	31,111	30,000	31,481±1697
12	0	0	0	0±0	320,000	314,444	317,777	317,407±2796	32,222	33,333	38,888	34,814±3571
14	0	0	0	0±0	161,111	127,778	138,889	142,593±16972	26,666	23,333	30,000	26,666±3334

ตารางที่ ก10 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	36,667	30,000	40,000	35,556±5092	6,666	7,777	7,777	7,407±641	15,555	17,777	17,777	17,036±1283
4	8,888	8,888	10,111	9,296±706	25,555	28,888	24,444	26,296±2313	57,777	60,000	56,666	58,148±1698
6	2,222	1,111	2,222	1,852±641	108,888	122,222	123,333	118,148±8038	34,444	24,444	23,333	27,407±6119
8	1,111	2,222	0	1,111±1111	122,222	136,666	122,222	127,037±8339	57,777	60,000	56,666	58,148±1698
10	0	0	0	0±0	168,888	184,444	186,666	179,999±9687	30,000	33,333	37,777	33,703±3902
12	0	0	0	0±0	228,888	226,666	233,333	229,629±3395	17,777	15,555	20,000	17,777±2223
14	0	0	0	0±0	165,556	148,556	177,778	163,963±14676	20,000	26,666	20,000	22,222±3849

ตารางที่ ก11 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังอ่อน ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	10,000	10,000	8,888	9,629±642	11,111	11,111	12,222	11,481±641	21,111	20,000	20,000	20,370±641
4	7,777	7,777	5,555	7,036±1283	47,777	42,222	46,666	45,555±2939	55,555	56,666	46,666	52,962±5481
6	13,333	12,222	17,777	14,444±2939	187,777	187,777	188,888	188,147±641	27,777	32,222	27,777	29,259±2566
8	12,222	12,222	15,555	13,333±1924	192,222	231,111	230,000	217,778±22139	44,444	53,333	44,444	47,407±5132
10	7,778	7,778	6,667	7,408±641	137,777	137,777	142,222	139,259±2566	47,777	47,777	44,444	46,666±1924
12	2,222	1,111	1,111	1,481±641	134,444	138,888	133,333	135,555±2939	56,666	53,333	55,555	55,185±1697
14	0	0	0	0±0	100,000	100,000	77,778	92,593±12830	31,111	33,333	35,555	33,333±2222

ตารางที่ ก12 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังเขากวาง *Acropora* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	10,667	11,111	10,889	10,889±222	3,333	4,444	3,333	3,703±641	11,111	10,000	10,000	10,370±641
4	3,333	5,555	4,444	4,444±1111	2,222	4,444	4,444	3,703±1283	26,666	24,444	24,444	25,185±1283
6	0	0	0	0±0	20,000	17,777	15,555	17,777±2223	7,777	6,666	5,555	6,666±1111
8	0	0	0	0±0	18,888	17,777	15,555	17,407±1697	11,111	10,000	12,222	11,111±1111
10	0	0	0	0±0	51,111	50,000	61,111	54,074±6119	14,444	15,555	14,444	14,814±641
12	0	0	0	0±0	44,444	48,888	45,555	46,296±2313	13,333	14,444	13,333	13,703±641
14	0	0	0	0±0	30,000	40,000	36,667	35,556±5092	7,778	6,667	5,556	6,667±1111

ตารางที่ ก13 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังรังผึ้ง *Goniastrea* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	17,777	21,111	21,111	20,000±1925
2	5,555	6,666	10,000	7,407±2313	3,333	3,333	3,333	3,333±0	26,666	23,333	30,000	26,666±3334
4	5,555	2,222	2,222	3,333±1924	11,111	8,888	13,333	11,111±2223	4,444	5,555	4,444	4,814±641
6	0	1,111	2,222	1,111±1111	33,333	35,555	37,777	35,555±2222	13,333	13,333	16,666	14,444±1924
8	0	0	2,222	741±1283	37,777	44,444	35,555	39,259±4626	13,333	11,111	14,444	12,963±1697
10	0	0	0	0±0	63,333	72,222	78,888	71,481±7804	11,111	16,666	13,333	13,703±2796
12	0	0	0	0±0	107,777	108,888	102,222	106,296±3571	8,889	8,889	6,667	8,148±1283
14	0	0	0	0±0	83,333	99,273	88,889	90,498±8091	17,777	21,111	21,111	20,000±1925

ตารางที่ ก14 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากหอยมือเสือ *Tridacna* sp.ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	16,667	13,333	10,000	13,333±3334	14,444	16,666	17,777	16,296±1697	16,666	14,444	15,555	15,555±1111
4	5,555	4,444	8,888	6,296±2313	44,444	44,444	45,555	44,814±641	68,888	60,000	72,222	67,037±6318
6	4,444	6,666	4,444	5,185±1283	77,777	80,000	82,222	80,000±2223	61,111	46,666	46,666	51,481±8340
8	3,333	3,333	4,444	3,703±641	85,555	90,000	93,333	89,629±3902	36,666	36,666	33,333	35,555±1924
10	0	0	0	0±0	121,111	127,777	123,333	124,074±3394	50,000	47,777	47,777	48,518±1283
12	0	0	0	0±0	146,666	155,555	153,333	151,851±4626	45,555	48,888	50,000	48,148±2313
14	0	0	0	0±0	83,333	83,333	88,889	85,185±3208	15,556	11,111	8,889	11,852±3395

ตารางที่ ก15 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกเห็ด *Fungia fungites* ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	5,000	5,000	5,000	5,000±0	2,222	4,444	3,333	3,333±1111	6,667	7,778	11,111	8,519±2313
4	6,666	4,444	4,444	5,185±1283	1,111	1,111	0	741±641	5,556	8,889	11,111	8,519±2796
6	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	2,222	2,222	2,222	2,222±0
8	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	1,111	1,111	1,111	1,111±0
10	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
12	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
14	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0

ตารางที่ ก16 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	4444	5555	4444	4,814±641	2,222	3,333	2,222	2,592±641	5,556	5,556	6,667	5,926±641
4	0	1111	1111	741±641	0	1,111	1,111	741±641	4,444	5,555	5,555	5,185±641
6	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	3,333	3,333	4,444	3,703±641
8	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	2,222	1,111	3,333	2,222±1111
10	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
12	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
14	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0

ตารางที่ ก17 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากดอกไม้ทะเล *Epiactis* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	2,222	1,111	1,111	1,481±641	0	0	1,111	370±641	13,333	13,333	16,667	14,444±1925
4	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	7,777	6,666	5,555	6,666±1111
6	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	4,444	4,444	4,444	4,444±0
8	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	2,222	2,222	3,333	2,592±641
10	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	1,111	1,111	1111	1,111±0
12	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
14	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0

ตารางที่ ก18 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังอ่อน ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	7,777	8,888	6,666	7,777±1111	6,667	4,444	6,667	5,926±1283	7,777	7,777	6,666	7,407±641
4	0	0	0	0±0	1,111	1,111	1,111	1,111±0	4,444	4,444	7,777	5,555±1924
6	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	2,222	2,222	1,111	1,852±641
8	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	1,111	1,111	1,111	1,111±0
10	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
12	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
14	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0

ตารางที่ ก19 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังเขากวาง *Acropora* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา (วัน)	10 psu				20 psu				30 psu			
	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	1111.111	2222.222	0	1,111±1111	1,111	1,111	0	741±641	2,222	1,111	2,222	1,852±641
4	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	1,111	0	1,111	741±641
6	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
8	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
10	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
12	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
14	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ก20 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากปะการังรังผึ้ง *Goniastrea* sp. ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	1,111	1,111	1,111	1,111±0	2,222	3,333	2,222	2,592±641	2,222	3,333	3,333	2,963±641
4	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	1,111	2,222	2,222	1,852±641
6	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	1,111	0	1111	741±641
8	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
10	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
12	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
14	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ก21 ความหนาแน่นเซลล์ของซูแซนเทลลี (เซลล์/มิลลิลิตร) ที่แยกเลี้ยงจากหอยมือเสือ *Tridacna* sp.ที่ระดับอุณหภูมิควบคุม 33 องศาเซลเซียส ภายใต้ระดับความเค็มต่างๆ

เวลา	10 psu				20 psu				30 psu			
(วัน)	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD	R1	R2	R3	ค่าเฉลี่ย ± SD
0	6,667	4,444	8,889	6,667±2223	5,000	5,000	5,000	5,000±0	5,000	5,000	5,000	5,000±0
2	0	0	0	1,111±0	4,444	6,666	5,555	5,555±1111	11,111	8,888	12,222	10,740±1698
4	0	0	0	0±0	1,111	1,111	0	741±641	10,000	7,777	8,888	8,888±1112
6	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	3,333	2,222	3,333	2,963±641
8	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	2,222	1111	1111	1,481±641
10	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
12	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
14	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ข

ตารางที่ ข1 การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation Analysis) ของอุณหภูมิ ความเค็ม และความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลี

		Salinity	Temp
Symbionts density	Pearson Correlation	.267**	-.318**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000
	Sum of Squares and Cross-products	87820750.741	-31332786.222
	Covariance	174593.938	-62291.822
	N	504	504

```
ALPHA(0.05).
```

ตารางที่ ข2 การวิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลองแบบ 7x3x3 Factorial experiment in CRD

ANOVA

Source	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	62	20518307991.804	4.649	.000
Intercept	1	591395427198.942	134.008	.000
zooxan	6	23382579183.386	5.298	.000
Temp	2	163830217093.526	37.123	.000
Salinity	2	124297380865.922	28.165	.000
zooxan * Temp	12	11484779283.392	2.602	.002
zooxan * Salinity	12	6340798268.075	1.437	.146
Temp * Salinity	4	59875153229.210	13.567	.000
zooxan * Temp * Salinity	24	4257370039.090	.965	.513
Error	441	4413143843.854		
Total	504			
Corrected Total	503			

a. R Squared = .395 (Adjusted R Squared = .310)

b. Computed using alpha = .05

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข3 ตารางเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาแน่นซูแซนเทลลีแบบ Duncan Multiple Rank Test

ความหนาแน่นเซลล์ซูแซนเทลลี

Duncan[a,b]

ผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ	N	Subset		
		1	2	3
ปะการังเขากวาง	72	11571.5370		
ปะการังรังผึ้ง	72	12689.0823		
หอยมือเสือ	72	25722.6224	25722.6224	
ดอกไม้ทะเล	72		35854.1872	35854.1872
ปะการังดอกเห็ด	72		47635.2294	47635.2294
ปะการังดอกกะหล่ำ	72			53038.9393
ปะการังอ่อน	72			53273.2593
Sig.		.231	.061	.154

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 4413143843.854.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 72.000
b. Alpha = .05.

จุฬา
CHULA

บรรณานุกรม

Berkelmans, Ray, and Madeleine J.H van Oppen. 2006. 'The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a 'nugget of hope' for coral reefs in an era of climate change', *Proceeding of the royal society B Biological Sciences*, 273.

CLODE, PETA L., MARTIN SAUNDERS, GARTH MAKER, MARTHA LUDWIG, and CRAIG A. ATKINS. 2009. 'Uric acid deposits in symbiotic marine algae', *Plant, Cell & Environment*, 32: 170-77.

Coffroth, Mary Alice, Daniel M. Poland, Eleni L. Petrou, Daniel A. Brazeau, and Jennie C. Holmberg. 2010. 'Environmental Symbiont Acquisition May Not Be the Solution to Warming Seas for Reef-Building Corals', *Plos One* 5.10 1-7.

DUBINSKy, Z., and P. L. JOKIEL. 1994. 'Ratio of Energy and Nutrient Fluxes Regulates Symbiosis between Zooxanthellae and Corals', *Pacific Science*, 48: 313-24.

ENGEBRETSON, HILARY, and KAREN L. M. MARTJN. 1994. 'Effects of Decreased Salinity on Expulsion of Zooxanthellae in the Symbiotic Sea Anemone Anthopleura elegantissima', *Pacific Science*, 48: 446-57.

Ferrier-Pagès, C., J.-P. Gattuso2, and J. Jaubert1. 1999. 'Effect of small variations in salinity on the rates of photosynthesis and respiration of the zooxanthellate coral Stylophora pistillata', *Marine Ecology Progress Series*, 181: 309-14.

Fujise, Lisa, Hiroshi Yamashita, Go Suzuki, Kengo Sasaki, Lawrence M. Liao, and Kazuhiko Koike. 2014. 'Moderate Thermal Stress Causes Active and Immediate Expulsion of Photosynthetically Damaged Zooxanthellae (Symbiodinium) from Corals', *Plos One*: 1-18.

Hoegh-Guldberg, Ove, and G. JasonSmith. 1989. 'The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals Stylophora pistillata Esper and Seriatopora hystrix Dana', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 129: 279-303.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Houlbrèque, Fanny, Eric Tambutté, Denis Allemand, and Christine Ferrier-Pagès. 2004. 'Interactions between zooplankton feeding, photosynthesis and skeletal growth in the scleractinian coral Stylophora pistillata', *Journal of Experimental Biology*, 207: 1461-69.

Iglesias-Prieto, R., V. H. Beltra´n, T. C. LaJeunesse, H. Reyes-Bonilla, and P. E. Thome´. 2004. 'Different algal symbionts explain the vertical distribution of dominant reef corals in the eastern Pacific', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 271: 1757-63.

Kinzie, Robert A., Michelle Takayama, Scott R. Santos, and Mary Alice Coffroth. 2001. 'The Adaptive Bleaching Hypothesis: Experimental Tests of Critical Assumptions', *University of Chicago Press Journals*, 200.

LaJeunesse, Todd C. 2005. '"Species" Radiations of Symbiotic Dinoflagellates in the Atlantic and Indo-Pacific Since the Miocene-Pliocene Transition', *Molecular Biology and Evolution*, 22: 570-81. 2020. 'Quick guide Zooxanthellae', *Current Biology*, 30: R1096-R169.

LaJeunesse, Todd C., Daniel T. Pettay, Eugenia M. Sampayo, Niphon Phongsuwan, Barbara Brown, David O. Obura, Ove Hoegh-Guldberg, and William K. Fitt. 2010. 'Long-standing environmental conditions, geographic isolation and host–symbiont specificity influence the relative ecological dominance and genetic diversification of coral endosymbionts in the genus Symbiodinium', *Journal of Biogeography*, 37: 785-800.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Lesser, Michael P. 2010. *Coral Bleaching: Causes and Mechanisms*.

Levin, Rachel A., Victor H. Beltran, Ross Hill, Staffan Kjelleberg, Diane McDougald, Peter D. Steinberg, and Madeleine J. H. van Oppen. 2016. 'Sex, Scavengers, and Chaperones: Transcriptome Secrets of Divergent Symbiodinium Thermal Tolerances', *Molecular Biology and Evolution*, 33: 2201-15.

Muscatine, L., P. G. Falkowski, Z. Dubinsky, P. A. Cook, and L. R. McCloskey. 1989. 'The Effect of External Nutrient Resources on the Population Dynamics of Zooxanthellae in a Reef Coral', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 236: 311-24.

Parrin, Austin P., Tamar L. Goulet, MarkA.Yaeger, Lori S. Bross, Catherine S. McFadden, and Neil W. Blackstone. 2016. 'Symbiodiniummigration mitigates bleaching in three octocoral species', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 474: 73-80.

Rodolfo-Metalpa, Riccardo, Denis Allemand Cécile Richard, Carlo Nike Bianchi, Carla Morri, and Christine Ferrier-Pagès. 2006. 'Response of zooxanthellae in symbiosis with the Mediterranean corals Cladocora caespitosa and Oculina patagonica to elevated temperatures', *Marine Biology*, 150: 45-55.

Rowan, Rob. 2002. 'Diversity and ecology of zooxanthellae on coral reefs', *Journal of Phycology*, 34: 407-17.

SAKAMI, TOMOKO. 2000. 'Effects of temperature, irradiance, salinity and inorganic nitrogen concentration on coral zooxanthellae in culture', *Fisheries science*, 66: 1006-13.

Stambler, Noga. 2011. 'Zooxanthellae: The Yellow Symbionts Inside Animals', *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*: 87-106.

Strychara, Kevin B., and Paul W. Sammarco. 2009. 'Exaptation in corals to high seawater temperatures: Low concentrations of apoptoticand necrotic cells in host coral tissue under bleaching conditions', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 369: 31-42.

Thinesh, T., R. Meenatchia, Polpass Arul Josec, G. Seghal Kirand, and Joseph Selvina. 2019. 'Differential bleaching and recovery pattern of southeast Indian coral reef to 2016 global mass bleaching event: Occurrence of stress-tolerant symbiont *Durusdinium* (Clade D) in corals of Palk Bay', *Marine Pollution Bulletin* 145: 278-194.

Toller, W. W., R. Rowan, and N. Knowlton. 2001. 'Zooxanthellae of the Montastraea annularis Species Complex: Patterns of Distribution of Four Taxa of Symbiodinium on Different Reefs and Across Depths', *University of Chicago Press Journals*, 201.

Wakefield, TS, MA Farmer, and SC Kempf. 2000. 'Revised description of the fine structure of in situ "zooxanthellae" genus Symbiodinium', *The Biological Bulletin*, 199.

Wang, L.-H., Y.-H. Liu, Y.-M. Ju, Y.-Y. Hsiao, L.-S. Fang, and C.-S. Chen. 2008. 'Cell cycle propagation is driven by light–dark stimulation in a cultured symbiotic dinoflagellate isolated from corals', *Coral Reefs*, 27: 823-35.

WARNER, M. E., W. K. FITT, and G. W. SCHMIDT. 1996. 'The effects of elevated temperature on the photosynthetic efficiency of zooxanthellae in hospite from four different species of reef coral: a novel approach', *Pant cell & environment*, 19: 247-371.

Weis, M.V., S.W. Reynolds, M.D. Deboer, and A.D. Krupp. 2001. 'Host-symbiont specificity during onset of symbiosis between the dinoflagellates Symbiodinium spp. and planula larvae of the scleractinian coral Fungia scutari.', *Coral reefs* 20: 301-08.

Wilkerson, F. P., D. Kobayashi, and L. Muscatine. 1988. 'Mitotic index and size of symbiotic algae in Caribbean Reef corals', *Coral Reefs*, 7: 29-36.

Yamashita, H., G. Suzuki, T. Hayashibara, and K. Koike. 2013. 'Acropora recruits harbor ‘‘rare’’ Symbiodinium in the environmental pool', *Coral Reefs* 32: 355-66.

Yamashita, Hiroshi, and Kazuhiko Koike. 2015. 'Biology of Symbiotic Dinoflagellates (Symbiodinium) in Corals', *Marine Protists* 421-38.

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. รายงานประจำปี 2561 กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง (สำนักงานเลขานุการกรม).

คงจันทร์ตรี, นรินทร์รัตน์, วันศุกร์ เสนานาญ, และ อรอง จันทร์ประสาทสุข. 2560. "โครงการ ชนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของสาหร่ายซูแซนเทลลี ในแนวปะการังชายฝั่งภาคตะวันออกและความจำเพาะของเจ้าบ้าน-ชนิดของสาหร่าย ที่ได้รับอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อม." ใน.: มหาวิทยาลัยบูรพา.

ทองแถม, นลินี, และ นิพนธ์ พงศ์สุวรรณ. 2553. บันทึกจากทะเล ๒๕๕๔ (สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง).

รัตนะวงวาล, ทิพวิมล. 2557. 'รูปแบบการสืบพันธุ์ของปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758) บริเวณเขาหมาจอ จังหวัดชลบุรี โดยใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมไมโครแซตเทลไลท์', จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	กมลพร พัฒนศิริ
วัน เดือน ปี เกิด	27 กรกฎาคม 2530
สถานที่เกิด	ภูเก็ต
วุฒิการศึกษา	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ปัจจุบัน	16/7 ม.4 ต.ถ้ำน้ำผุด อ.เมือง จ.พังงา 82000
ผลงานตีพิมพ์	กมลพร พัฒนศิริ, ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ, เจริญ นิติธรรมยง, อิงอร ทองคำดี และ ดุสิต ศรีวิไล. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ Pocillopora damicornis. วารสารการประชุมการประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 6 “ทรัพยากรไทย : นำสิ่งดีงามสู่ตาโลก”. (2556): 288-293.

กมลพร พัฒนศิริ, ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ, เจริญ นิติธรรมยง, อิงอร ทองคำดี และ ดุสิต ศรีวิไล. ความทนทานต่อความเค็มของ zooxanthellae ที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ (Pocillopora damicornis), ปะการังดอกเห็ด (Fungia fungites) และดอกไม้ทะเล (Epiactis sp.) ที่อุณหภูมิสูง. วารสารการประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 4 (2557) : 162-168.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University