กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.เมธิณี อยู่เจริญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิจัย ที่คอยให้ความอนุเคราะห์ในด้านต่างๆ ให้คำปรึกษา และคอยสนับสนุนทุกๆ ด้านตลอดการจัดทำวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ชายฉัตร บุญญานุสิทธิ์ อาจารย์นิเทศ ประจำหลักสูตรชีววิทยา ที่คอยให้กำลังใจ และให้ให้คำปรึกษาในการทำวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.แววดาว ดาทอง อาจารย์ที่ปรึกษาประจำภาควิชาชีววิทยา ที่คอยให้กำลังใจ ระหว่างการการฝึกสหกิจศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยาทุกๆ ท่าน ที่คอยดูแลและคอยติดตามการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณพี่บัณฑิตศึกษาที่ทุกๆท่าน ที่คอยให้ข้อคิดและคำปรึกษาต่างๆระหว่างการฝึกสหกิจศึกษา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบุพการี พี่น้อง และเพื่อนๆ ที่คอยให้กำลังใจและอยู่เคียงข้างกันเสมอมารวมถึงตัวข้าพเจ้าที่อดทนต่อปัญหาและอุปสรรค์ต่างๆที่เกิดขึ้นระหว่างทำวิจัย จนทำงานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุร่วงไปได้ด้วยดี

นางสาว ชิโรธรณ์ ทองทา

ผู้วิจัย

ชื่องานวิจัย การเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *Pocillopora acuta* และ *Porites lutea* ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง

(Change of zooxanthellae associated with *Pocillopora acuta* and *Porites lutea* under high temperature condition)

ชื่อผู้วิจัย นางสาวชิโรธรณ์ ทองทา รหัสนักศึกษา 5940202131

หลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา

ปีการศึกษา 2562

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. เมธิณี อยู่เจริญ

อาจารย์นิเทศ ดร. ชายฉัตร บุญญานุสิทธิ์

บทคัดย่อ

สถานวิจัยสมุทรศาสตร์ชายฝั่งและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Coastal oceanography and climate change research center) เป็นหน่วยงานซึ่งเน้นงานวิจัย และพัฒนาองค์ความรู้ด้านสมุทรศาสตร์, วิทยาศาสตร์ทางทะเล และผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศต่อสิ่งมีชีวิต โดยใช้สหวิทยาการทั้งด้านฟิสิกส์, คณิตศาสตร์, เคมี, ชีววิทยา, นิเวศวิทยา, วิทยาศาสตร์ทางทะเล, และคอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีสารสนเทศ การเข้าโครงการสหกิจศึกษาในครั้งนี้ ได้รับผิดชอบงานส่วนต่างๆ ที่อยู่ในขอบเขตการรับผิดชอบของ COCC นอกจากนี้ยังรับผิดชอบการเป็นผู้ช่วยวิจัยจึงได้จัดทำมินิโปรเจคเรื่อง การเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *Pocillopora acuta* และ *Porites lutea* ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง (Change of zooxanthellae associated with *Pocillopora acuta* and *Porites lutea* under high temperature condition) ทำการเก็บตัวอย่างปะการังที่มีลักษณะรูปร่างที่แตกต่างกัน 2 ชนิด (*P. acuta* และ *P. lutea*) บริเวณหน้าศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งทะเล อันดามัน แหลมพันวา จ. ภูเก็ต เพื่อต้องการศึกษาระดับอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อปะการังจึงได้ทำการทดสอบในอุณหภูมิที่แตกต่างกันได้แก่ 27°C, 29.5°C, 32°C, 34.5°C โดยทำการวิเคราะห์หาความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณของคลอโรฟิลล์ *a* และ c_2 พบว่าระดับอุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อปะการัง โดยปะการัง *Pocillopora acuta* มีความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีลดลง ในชุดการทดลองอุณหภูมิ 32°C และ 34.5°C ปริมาณของ chlorophyll *a*, c_2 ลดลงในชุกการทดลองอุณหภูมิ 34.5°C เมื่อเทียบกับ

ชุดควบคุม (27°C) สำหรับปะการัง *Porites lutea* มีความทนทานต่อการตอบสนองที่มากกว่า เนื่องจากความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณของ chlorophyll *a*, c_2 ลดลงเพียงชุดการทดลองอุณหภูมิ 34.5°C เท่านั้น เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (27°C) ดังนั้นขีดจำกัดอุณภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อปะการังคืออุณหภูมิ 32°C ขึ้นไป

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**1**
บทคัดย่อ	**2**
สารบัญ	**4**
สารบัญตาราง	**7**
สารบัญภาพ	**7**
บทที่ 1 สถานประกอบการ	**8**
1.1 ความเป็นมา	8
1.2 ที่ตั้ง	8
1.3 ความสำคัญ	9
1.4 พันธกิจ	9
1.5 วัตถุประสงค์	9
1.6 ตำแหน่งและลักษณะงานที่ได้รับมอบหมาย	10
1.7 พี่เลี้ยงและตำแหน่ง	10
1.8 ระยะเวลาการปฏิบัติงาน	10
บทที่ 2 หน้าที่และภาระงานที่ปฏิบัติ	**11**
2.1 ผู้ช่วยวิจัย	11
2.2 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	11
2.3 แนวคิดของโครงการ	12
2.4 วัตถุประสงค์	12
2.5 สมมติฐาน	12

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	13
2.7 บทตรวจเอกสาร	13
- ปะการังและความสัมพันธ์กับสาหร่ายซูแซนเทลลี	14
- ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ	15
- กลไกการสังเคราะห์แสงภายในเซลล์และการตอบสนองต่อความเครียด	16
- การปรับตัวของปะการังและสาหร่ายซูแซนเทลลี	17
2.8 วิธีการดำเนินงานวิจัย	18
- การเก็บตัวอย่างปะการังจากธรรมชาติ	18
- การเตรียมตู้ทดลองและปรับสภาพปะการัง	19
- การออกแบบการทดลอง	19
- การวิเคราะห์ตัวอย่าง	20
การสกัดเนื้อเยื่อ	20
การหาพื้นที่ผิวของชิ้นส่วนปะการัง	21
ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี	21
ปริมาณ chlorophyll *a* และ c_2	21
- การวิเคราะห์ข้อมูล	22
2.9 ผลการทดลอง	22
- ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี	22
- ปริมาณ chlorophyll *a*	25
- ปริมาณ chlorophyll c_2	27

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.10 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา	27
บทที่ 3 สรุปผลการปฏิบัติงาน	**28**
บทที่ 4 ปัญหาและข้อเสนอแนะ	**29**
1. ปัญหา	29
2. ข้อเสนอแนะ	29
เอกสารอ้างอิง	**30**

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 ชุดการทดลองและแผนการเก็บตัวอย่างปะการัง 20

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 เซลล์สาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง 13

2 กระบวนการปะการังฟอกขาว 14

3 สังเคราะห์ด้วยแสงในคลอโรพลาสต์ของสาหร่ายซูแซนเทลลี 15

4 ตู้ทดลองที่เลี้ยงปะการัง *P. acuta* และ *P. lutea* 19

5 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของความหนาแน่นสาหร่ายซูแซนเทลลี ในปะการัง *P. acuta* 23

6 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของความหนาแน่นสาหร่ายซูแซนเทลลี ในปะการัง *P. lutea* 23

7 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของปริมาณ chlorophyll *a* ในปะการัง *P. acuta* 24

8 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของปริมาณ chlorophyll *a* ในปะการัง *P. lutea* 25

9 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของปริมาณ chlorophyll c_2 ในปะการัง *P. acuta* 26

10 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของปริมาณ chlorophyll c_2 ในปะการัง *P. lutea* 26

บทที่ 1

สถานประกอบการ

สถานวิจัยสมุทรศาสตร์ชายฝั่งและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Coastal oceanography and climate change research center)

1.1 ความเป็นมา

ทุกวันนี้ระบบนิเวศกำลังเผชิญกับปัญหาที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ เช่น มลพิษ และการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศซึ่งส่งผลคุกคามความยั่งยืนของทรัพยากร สถานวิจัยจึงจัดตั้งขึ้นเพื่อศึกษาปัญหาเหล่านี้ ผ่านการวิจัยแบบบูรณาการ โดยมีนักวิจัยหลากหลายสาขามาร่วมทำการวิจัย และก่อตั้งสถานวิจัยสมุทรศาสตร์ชายฝั่งและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศขึ้นเมื่อปี 2017

1.2 ที่ตั้ง

อาคารบริหารวิชาการรวม ชั้น 5 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตำบล คอหงส์ อำเภอ หาดใหญ่ จังหวัด สงขลา รหัสปรษณีย์ 90110

1.3 ความสำคัญ

สถานวิจัยสมุทรศาสตร์ชายฝั่งและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ เป็นหน่วยงานซึ่งเน้นงานวิจัยและพัฒนาองค์ความรู้ด้านสมุทรศาสตร์, วิทยาศาสตร์ทางทะเล และผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศต่อสิ่งมีชีวิต โดยใช้สหวิทยาการทั้งด้านฟิสิกส์, คณิตศาสตร์, เคมี, ชีววิทยา, นิเวศวิทยา, วิทยาศาสตร์ทางทะเล, และคอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีสารสนเทศ

1.4 พันธกิจ

1. วิจัยและศึกษาผลกระทบเชิงพื้นที่ เช่น ศึกษาความสัมพันธ์และผลกระทบของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมมีต่อสิ่งมีชีวิตและความหลากหลายทางชีวภาพในทะเลสาบสงขลาและคาบสมุทรสทิงพระ และชุมชนที่ตั้งถิ่นฐานในพื้นที่ดังกล่าว ทั้งในระยะสั้นและระยะยาว โดยโจทย์วิจัยจะได้มาจากปัญหาในพื้นที่

2. ศึกษาและทำนายผลกระทบที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศที่มีต่อสิ่งมีชีวิตและความหลากหลายทางชีวภาพ เช่น

- การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของกระแสน้ำ
- การเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำทะเล
- การเปลี่ยนแปลงทิศทางและความเร็วของกระแสน้ำ
- การบุกรุกน้ำเค็มในบริเวณแม่น้ำ และทะเลสาบน้ำจืด ซึ่งส่งผลให้ความเค็มเปลี่ยนแปลง
- ระดับน้ำทะเลที่สูงสูงขึ้น, การเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำขึ้น-น้ำลง
- การเปลี่ยนแปลงความเข้ม และความยาวคลื่นแสง
- การเพิ่มขึ้นของธาตุอาหารในน้ำและดิน
- การเปลี่ยนแปลงของโลหะหนักในน้ำและดิน
- การปรับตัวของชุมชนในพื้นที่ชายฝั่ง

1.5 วัตถุประสงค์

1. เพื่อเป็นศูนย์ประสานความร่วมมือในการวิจัยทั้งในด้านความรู้และเทคโนโลยีของนักวิจัยจากทั้งในและนอกประเทศที่มีความเชี่ยวชาญและความสนใจทางด้านสมุทรศาสตร์ชายฝั่ง การเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศ ที่มีผลกระทบต่อพืชและสัตว์ รวมถึงสังคมมนุษย์

2. เพื่อผลิตผลงานวิจัยที่มีคุณภาพด้านสมุทรศาสตร์ชายฝั่งและการเปลี่ยนแปลงทางภูมิอากาศ

3. เพื่อส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงสหวิทยาการ

4. เพื่อสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่และเพื่อนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาที่มีความสนใจด้านสมุทรศาสตร์ชายฝั่งและการเปลี่ยนแปลงทางภูมิอากาศ

1.6 ตำแหน่งและลักษณะงานที่ได้รับมอบหมาย

ผู้ช่วยวิจัย

-วางแผนและปฏิบัติงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงตามเป้าหมาย รวมถึงแก้ไขปัญหาต่าง ๆที่เกิดขึ้น

1.7 พี่เลี้ยงและตำแหน่ง

ดร.เมธิณี อยู่เจริญ ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ ชีววิทยาของปะการังและอนุกรมวิธานของปะการัง, ระบบนิเวศแนวปะการังและระบบนิเวศทางทะเลและการจัดการแนวปะการัง

1.8 ระยะเวลาการปฏิบัติงาน

18 พฤศจิกายน 2562 – 6 มีนาคม 2563

บทที่ 2

หน้าที่และภาระงานที่ปฏิบัติ

2.1 ผู้ช่วยวิจัย

ชื่องานงานวิจัย การเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *Pocillopora acuta* และ *Porites lutea* ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง (Change of zooxanthellae associated with *Pocillopora acuta* and *Porites lutea* under high temperature condition)

2.2 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ระบบนิเวศแนวปะการังเป็นระบบนิเวศใต้น้ำที่มีความหลากหลาย (Birkeland, 1997) ครอบคลุมพื้นที่ประมาณ 0.1% ของพื้นที่มหาสมุทรทั่วโลก (Burke *et al*., 2011) เนื่องจากแนวปะการังนั้นมีลักษณะที่ซับซ้อนเป็นซอกหลืบ ทำให้เป็นแหล่งที่อยู่ของสัตว์น้ำ โดย 25% ของชนิดสิ่งมีชีวิตในทะเลนั้นอาศัยอยู่บริเวณแนวปะการัง (Burke *et al*., 2011) แนวปะการังมีส่วนทำให้น้ำทะเลมีความสมดุลทางเคมีและอยู่ในสภาพที่ดี สามารถผลิตหินปูนหรือแคลเซียมคาร์บอเนตจากน้ำทะเล คาดว่าครึ่งหนึ่งของปริมาณแคลเซียมทั่วโลกที่ไหลลงสู่ทะเลจะถูกแนวปะการังดูดซับเอาไว้ ในรูปแบบของหินปูน ($CaCO_3$) และสารอินทรีย์ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกตรึงภายในแนวปะการัง (Kinsey and Hopley, 1991) นอกจากนี้แนวปะการังยังเป็นแนวป้องกันการกัดเซาะและพังทลายของชายฝั่งทะเล แนวปะการังจะช่วยลดแรงปะทะและลดความรุนแรงของคลื่นก่อนที่จะวิ่งเข้าสู่ชายฝั่ง สามารถป้องกันความเสียหายที่เกิดจากพายุได้ (Kench and Owen, 2015) และปัจจุบันแนวปะการังเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญ โดยนักท่องเที่ยวส่วนใหญ่มีความต้องการที่จะชมความงามของแนวปะการัง ปัจจุบันการดำน้ำลึกและการดำน้ำผิวน้ำเป็นกิจกรรมหนึ่งที่เป็นที่นิยมของนักท่องเที่ยว (Lamb *et al*., 2014)

การเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศกำลังส่งผลกระทบต่อทุกระบบนิเวศบนโลกรวมทั้งระบบนิเวศแนวปะการัง จากการที่อุณหภูมิน้ำทะเลสูงขึ้นผิดปกติอย่างต่อเนื่องทำให้ปะการังเกิดความเครียด กลไกการสังเคราะห์แสงภายในเซลล์ได้รับความเสียหาย และสาหร่ายซูแซนเทลลีถูกทำลาย ปะการังจึงกลายเป็นสีขาวจากการสูญเสียสาหร่ายซูแซนเทลลี ปรากฏการณ์นี้เรียกว่าปะการังฟอกขาว (coral bleaching) (Roche *et al*., 2018) ปะการังฟอกขาวเกิดขึ้นทั้งในระดับโลก ภูมิภาคและท้องถิ่น โดยมีรายงานการสำรวจปะการังฟอกขาวตั้งแต่

40 ปีมาแล้ว (Glynn, 1993) สำหรับในน่านน้ำไทยมีรายงานปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวเกิดขึ้นมาแล้วหลายครั้ง ซึ่งครั้งที่แนวปะการังได้รับความเสียหายมาก ได้แก่ ปี ค.ศ. 1991 1995 1998 และ 2010

การฟื้นตัวของปะการังจากการฟอกขาวแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างเช่นกัน ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการฟอกขาวและสภาพแวดล้อมของแนวปะการัง (Sutthacheep *et al*., 2013) นอกจากนี้ชนิดปะการังและสาหร่ายซูแซนเทลลีเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อความต้านทานการฟอกขาว หรือต้านทานต่ออุณหภูมิน้ำทะเลสูง (Putchim *et al*., 2017) งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของปะการังสองชนิดที่มีรูปร่างแตกต่างกัน คือ ปะการังดอกกะหล่ำ (*Pocillopora acuta*) และปะการังโขด (*Porites lutea*) ในสภาวะอุณหภูมิสูง ซึ่งใช้ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณคลอโรฟิลล์เป็นสิ่งบ่งชี้ความเครียดของปะการัง

2.3 แนวคิดของโครงการ

อุณหภูมิน้ำทะเลที่สูงขึ้นและปริมาณความเข้มแสงที่มากขึ้นจากปกติสามารถกระตุ้น การเจริญเติบโตของปะการังและอัตราการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลี แต่เมื่อระดับอุณหภูมิและแสงสูงเกินกว่าขีดจำกัดจะทำให้ปะการังแสดงอาการฟอกขาวและตาย งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ก่อนที่ปะการังจะแสดงอาการฟอกขาว โดยทดสอบกับปะการังสองชนิดที่มีรูปร่างแตกต่างกัน คือ ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora acuta* และปะการังโขด *Porites lutea* ซึ่งใช้ indicator ทางสรีรวิทยา

2.4 วัตถุประสงค์

1 เพื่อศึกษาระดับอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อปะการัง

2 เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อความเครียดของปะการังที่มีรูปร่างแตกต่างกัน

2.5 สมมติฐาน

1 อุณภูมิสูงทำให้ปริมาณสาหร่ายซูแซนเทลลีและคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อปะการังลดลง

2 ปะการังที่มีรูปร่างแตกต่างกันมีการตอบสนองที่แตกต่างกัน

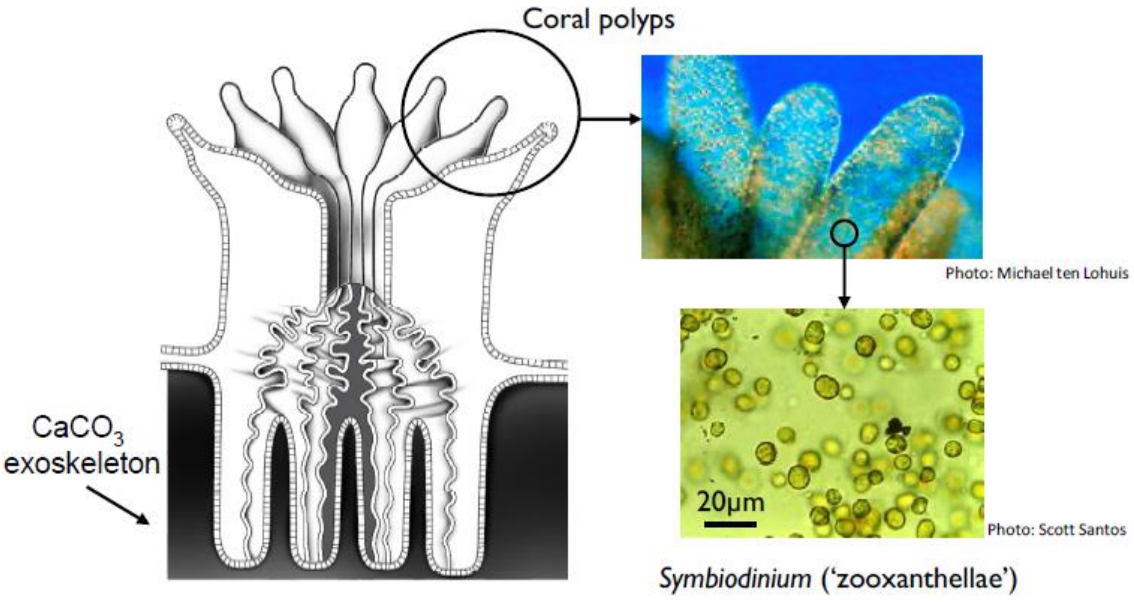
2.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้รับองค์ความรู้ด้านสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองในระดับเซลล์ของปะการังต่อความเครียดจากอุณหภูมิระดับต่าง ๆ และผลของงานวิจัยจะทำให้สถานที่ฝึกปฏิบัติงานได้รวบรวมเป็นฐานข้อมูลสำหรับผู้ที่สนใจ

2.7 บทตรวจเอกสาร

ปะการังและความสัมพันธ์กับสาหร่ายซูแซนเทลลี

ปะการังส่วนใหญ่อาศัยอยู่เป็นกลุ่มรวมกันเรียกว่า โคโลนี (colony) ซึ่งทำให้ปะการังมีรูปทรงที่หลากหลาย เช่น แบบกิ่งก้านหรือเขากวาง (branching) แบบก้อน (massive) แบบกึ่งก้อน (sub-massive) แบบทรงแผ่แบนคล้ายโต๊ะ (tabulate) แบบเคลือบ (encrusting) เป็นต้น รูปทรงที่หลากหลายเหล่านี้ทำให้แนวปะการังมีโครงสร้างที่ซับซ้อนเหมาะสำหรับสิ่งมีชีวิตที่เข้ามาอาศัยและใช้ประโยชน์ ลักษณะโครงสร้างของปะการังประกอบไปด้วยโพลิป (polyps) กล่าวคือเนื้อเยื่อส่วนที่มีชีวิตปกคลุมโครงร่างหินปูน (calcium carbonate) (Baker, 2003; Fournier, 2013)



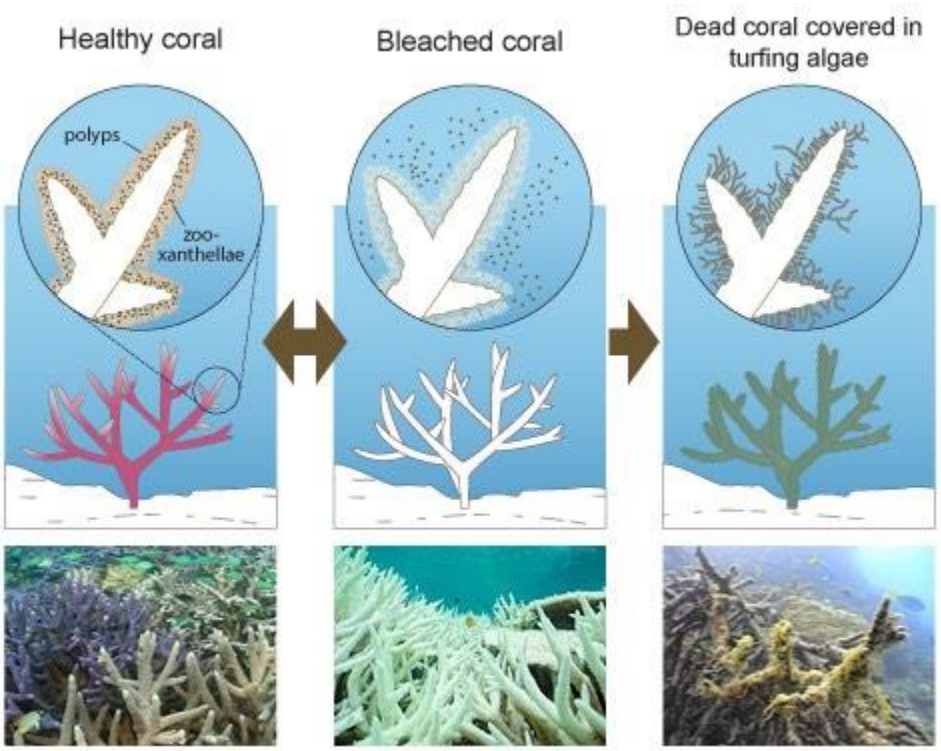
ภาพที่ 1 เซลล์สาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง (Wooldridge, 2019)

ปะการังมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis relationship) กับสาหร่ายซูแซนเทลลี (zooxanthellae) จากการเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน (Baker, 2003; Fournier, 2013) โดยปะการังได้รับอาหาร เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล คาร์โบเดรต โปรตีน จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Gattuso *et*

al.,1999) ของสาหร่ายซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่บริเวณเนื้อเยื่อชั้น gastroderm ของปะการัง (Muller-parker and D'Eila, 1997) สาหร่ายซูแซนเทลลีสามารถถ่ายทอดพลังงานไปยังปะการังได้ถึง 95% (Adey and Loveland, 2007; Fournier, 2013) สัดส่วนของพลังงานที่ปะการังต้องการจากสาหร่ายซูแซนเทลลีนั้นแตกต่างกันออกไปตามชนิดปะการังที่เป็นเจ้าบ้าน ในขณะเดียวกันสาหร่ายซูแซนเทลลีได้รับสารอาหารเช่น คาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย ฟอสเฟต เป็นต้น (Birkeland, 1997) จากการขับถ่ายของปะการัง เพื่อนำไปใช้ในการสังเคราะห์แสงและสร้างสารอาหารต่อไป (Hoegh-Guldberg, 1999; Miththapala, 2008; O'Neil and Capone, 2008)

ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ

ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว (coral bleaching) เกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ปะการังเกิดความเครียด มีผลทำให้กลไกการสังเคราะห์ด้วยแสงภายในเซลล์สาหร่ายซูแซนเทลลีได้รับความเสียหาย ซึ่งการสูญเสียสาหร่ายซูแซนเทลลีออกจากเนื้อเยื่อทำให้มองเห็นปะการังเป็นสีขาวจากสีของโครงสร้างหินปูน (Douglas, 2003; Hughes *et al*., 2017) โดยทั่วไปปะการังฟอกขาวสามารถเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ อุณหภูมิน้ำทะเลเพิ่มขึ้น หรือลด ปริมาณแสงที่มากขึ้น ความเค็มของน้ำทะเลที่ลดลง ปริมาณตะกอนที่บดบังการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลี การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบสของน้ำทะเล (Brown, 1997; Barid *et al*., 2008)

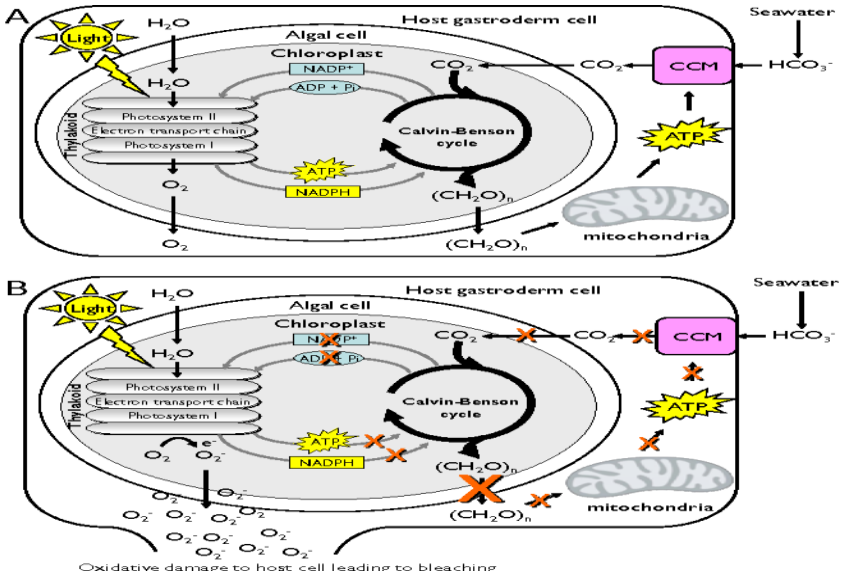


ภาพที่ 2 กระบวนการปะการังฟอกขาว (Wlicox, 2016)

อย่างไรก็ตามสาเหตุส่วนใหญ่ของปะการังฟอกขาวมักมาจากการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิน้ำทะเลที่ผิดปกติ และปริมาณแสงที่เพิ่มมากขึ้น เมื่ออยู่ในสภาวะดังกล่าวเป็นเวลานานปะการังอาจตายได้ แต่ในบางครั้งเมื่อสภาพแวดล้อมกลับมาสู่สภาวะปกติ เช่น อุณหภูมิน้ำทะเลลดลง ปะการังสามารถรับซูแซนเทลลีเข้าสู่เนื้อเยื่ออีก (Adey and Loveland, 2007) ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวจากอุณหภูมิน้ำทะเลที่ผิดปกติเป็นประเด็นสำคัญระดับโลก เนื่องจากเกิดขึ้นทุกพื้นที่แนวปะการัง ได้แก่ มหาสมุทรอินเดียมหาสมุทรแปซิฟิก, ทะเล แคริบเบียน และมหาสมุทรแอตแลนติก (Wilkinson, 2008) การเกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวที่มีผลกระทบทั่วโลกครั้งแรกเกิดในปี ค.ศ. 1998 ครั้งที่สองเกิดในปี ค.ศ. 2010 และครั้งที่สามเกิดในปี ค.ศ. 2015-2017 (Hughes *et al*., 2017) ซึ่งหลายครั้งเกี่ยวข้องกับปรากฏการณ์ El Niño แนวปะการังประมาณ 16% ทั่วโลกได้รับความหายไปจากเหตุการณ์ปะการังฟอกจขาว โดยเฉพาะในมหาสมุทรอินเดียหรือเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และมีจำนวนเพียงครึ่งเดียวเท่านั้นที่มีการฟื้นตัวจากการฟอกขาวในปี ค.ศ. 1998 (Phongsuwan *et al*., 2013) มีกรณีศึกษาปะการังฟอกขาวที่ปะเทศอเมริกาในปี ค.ศ.1994-2003 (Speicher and Sharon, 2008) ซึ่งสร้างความเสียหาย เป็นบริเวณกว้าง และทำให้พื้นที่ปกคลุมของปะการังลดลง (Wilkinson, 2008)

กลไกการสังเคราะห์แสงภายในเซลล์และการตอบสนองต่อความเครียด

ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงเป็นตัวชี้วัดความเครียดที่สาหร่ายซูแซนเทลลีมีต่อสภาพแวดล้อม (Maxwell and Johnson, 2000; Schreiber, 2004) จากการศึกษาของ Philipp และ Fabricius (2003) พบว่า ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงสูงสุด (Fv/Fm) สามารถบ่งชี้ถึงความเครียดของสาหร่ายซูแซนเทลลีต่อตะกอน โดยจะมีค่าลดลงเมื่อมีอัตราการตกตะกอนสูง รวมถึงความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณรงควัตถุ ที่แสดงค่าในทิศทางเดียวกัน แต่มีการตอบสนองที่ไม่มากเท่า Fv/Fm



ภาพที่ 3 สังเคราะห์ด้วยแสงในคลอโรพลาสต์ของสาหร่ายซูแซนเทลลี (Wooldridge, 2009)

สาหร่ายซูแซนเทลลีมีคลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll *a*) และ คลอโรฟิลล์ ซี2 (chlorophyll c_2) อยู่ภายในเซลล์ เป็นสารสีที่สำคัญตัวหนึ่งที่สามารถดูดกลืนพลังงานแสงเพื่อนำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) เพื่อเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ให้กลายเป็นออกซิเจน และกลูโคส ซึ่งเกิดขึ้นในออร์แกเนลล์ ที่เรียกว่า คลอโรพลาสต์ ที่พบได้ในเซลล์พืช และสาหร่ายบางชนิด และการที่เรามองเห็นพืชผักมีสีเขียวก็เนื่องมาจากว่าเมื่อแสงขาวมาตกกระทบบนคลอโรฟิลล์ แล้วคลอโรฟิลล์สามารถดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดงไว้ได้มาก แต่ปล่อยให้ช่วงคลื่นแสงสีเขียวทะลุ และสะท้อนออกมาได้

โครงสร้างของคลอโรฟิลล์ตามธรรมชาตินั้นมีโครงสร้างพื้นฐานที่เรียกว่า porphyrin ring ที่คล้ายคลึงกับโครงสร้างของฮีมในฮีโมโกลบินของเซลล์เม็ดเลือดแดง แต่ต่างกันที่อะตอมที่ศูนย์กลางของคลอโรฟิลล์เป็นแมกนีเซียม (Mg) แทนที่จะเป็นเหล็ก (Fe) และนอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยไฮโดรคาร์บอนสายยาว (phytol side chain) อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ และฮีโมโกลบินจะคล้ายกันมาก แต่หน้าที่นั้นแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง ดังที่กล่าวไว้ข้างต้นว่าคลอโรฟิลล์นั้นทำหน้าที่ในการรับพลังงานแสงแล้วนำมาเปลี่ยนเป็นพลังงานเคมีเพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่วนฮีโมโกลบินของเซลล์เม็ดเลือดแดงทำหน้าที่ในการลำเลียงออกซิเจน และด้วยลักษณะโครงสร้างของคลอโรฟิลล์นี้เอง ทำให้คลอโรฟิลล์ไม่สามารถละลายน้ำได้ แต่ละลายได้ในน้ำมัน ส่งผลให้ร่างกายดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่ จึงมีการคิดค้นคลอโรฟิลล์ที่สามารถละลายน้ำได้ ที่เรียกว่า คลอโรฟิลลิน (chlorophyllin) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์กึ่งสังเคราะห์ของคลอโรฟิลล์ โดยใช้ คอปเปอร์ (Cu) แทนที่อะตอมของแมกนีเซียม (Mg) ที่อยู่ตรงกลางของ porphyrin ring และกำจัดสาย phytol ออกไปด้วย ทำให้คลอโรฟิลลิน สามารถละลายน้ำได้ และร่างกายสามารถดูดซึมได้ดีขึ้น (ขวัญชนก ศรัทธาสุข. 2014)

การฟอกขาวของปะการังที่ส่งผลให้สีของสาหร่ายซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังซีดลง ส่งผลในส่วนที่เกี่ยวข้องกับกลไกภายในของสาหร่ายซูแซนเทลลีคือ การสูญเสียประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง (Douglas, 2003; Hughes *et al*., 2017) โดยสร้างความเสียหายต่อระบบสังเคราะห์แสง ได้แก่ D1 protein on PSII, เยื่อหุ้มไทลาคอยด์, วัฏจักรคัลวิน (Calvin-Benson cycle) เมื่ออุณหภูมิและแสงเพิ่มมากขึ้น จะทำให้เกิดการผลิต reactive oxygen species (ROS) ที่มากเกินไป ซึ่ง ROS คืออนุมูลอิสระหรือกลุ่มสารที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น oxygen radicles (O^-_2) และ singlet oxygen ($1O_2$) บางตัวอาจมีความว่องไวในการดึงหรือรับ e จากสารชีวโมเลกุลต่างๆ เช่น โปรตีน ไขมัน ซึ่เป็นพิษต่อซูแซนเทลลี

โดยปกติแล้วซูแซนเทลลีจะมีกระบวนการกำจัด ROS ด้วย superoxide dismutase (SOD) ซึ่งคือเอนไซม์ชนิดหนึ่งในระบบป้องกันที่เป็นตัวทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดจากการกำจัดหรือเผาผลาญภายในเซลล์ S.O.D. จะเปลี่ยนอนุมูลอิสระ ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ก่อน แล้วหลังจากนั้น จะมีการทำ

ปฏิกิริยากับเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) ทำให้ได้น้ำ (H_2O) และก๊าซออกซิเจน (O_2) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย และก็ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์แต่ในกรณีที่ ROS ถูกผลิตมากเกินไปจนแพร่กระจายในเนื้อเยื่อปะการัง จะเป็นอันตรายและกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ (apoptosis) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสง (Bhagooli, 2013) ซึ่งมีผลต่อเนื่องกับปะการัง เนื่องจากขาดแคลนอาหาร (Middlebrook *et al*., 2008; Fujise *et al*., 2013) และปะการังที่ไม่มีซูแซนเทลลีอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อเป็นเวลานานจะทำให้ปะการังขาดอาหารและตายได้ (Adey and Loveland, 2007)

การปรับตัวของปะการังและสาหร่ายซูแซนเทลลี

แนวปะการังในแต่ละพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการฟอกขาวมากน้อยแตกต่างกัน ทั้งนี้เกี่ยวข้องกับปัจจัยของชนิดปะการังที่เปราะบางต่อการฟอกขาวหรือปะการังที่มีความต้านทาน และทนทานในพื้นที่นั้นๆ แล้วยังเกี่ยวข้องกับความสามารถในปรับตัวของปะการังและซูแซนเทลลี (LaJeunesse *et al*., 2003; Fautin & Buddemeier, 2004; Putchim, 2017) ในอดีตมีรายงานว่าปะการังในกลุ่มเขากวาง (*Acropora* spp.) มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอุณหภูมิค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับปะการังสกุลอื่น ๆ (Douglas, 2003) รายงานล่าสุดในปี ค.ศ. 2018 พบปะการังชนิดอื่นๆ ที่มีความไวต่อการฟอกขาวเมื่ออยู่สภาวะที่ไม่เหมาะสมดังนี้ 1.ปะการังทุนหรือปะการังกะหล่ำดอกเรียบ (*Stylophora* spp.) 2. ปะการังหินอ่อน (*Seriatopora* spp.) 3.ปะการังสมองกลีบหรือปะการังรากขนาดใหญ่ (*Lobophyllia hemprichii*) 4.ปะการังสมองปิด (*Leptoria phrygia*) 5.ปะการังหุบเขา (*Platygyra daedalea*) 6. ปะการังหิน (*Goniastrea retiformis*) 7.ปะการังใบร่องหนาม (*Merulina scabricula*) 8.ปะการังหินอ่อน (*Dipsastraea pallida*) 9.ปะการังลายดอกไม้ (*Pavona clavus*) 10. ปะการังผิวเกล็ดน้ำแข็ง (*Montipora informis*) 11. ปะการังลายนิ้วมือ (*Acropora humilis*) และ 12.ปะการังเขากวางแผ่แบนแบบโต๊ะ (Acropora cytherea) (Swain *et al*., 2018)

ในสาหร่ายซูแซนเทลลีสามารถตอบสนองและปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมได้เช่นกัน (Mass *et al*., 2010) กรณีศึกษาในบริเวณที่มีความเข้มแสงสูง เช่น แนวปะการังบริเวณที่ราบ สาหร่ายซูแซนเทลลีมีการปรับตัวโดยการลดจำนวนของเซลล์และปริมาณรงควัตถุลง ในขณะที่แนวปะการังบริเวณที่ลาดชันที่มีความเข้มแสงต่ำกว่า สาหร่ายซูแซนเทลลีมีการปรับตัวโดยการเพิ่มเซลล์และรงควัตถุเพื่อให้จับแสงได้มากขึ้นและมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Zhao and Yu, 2014) ซึ่งกลไกการปรับตัวในระดับเซลล์มี 2 รูปแบบ ดังนี้ 1) กลไกการป้องกันจากแสง (photopreotection mechanism) เกิดจากการเปลี่ยนรงควัตถุในซูแซนเทลลีจาก diadinoxanthin ไปเป็น diatoxanthin (ซึ่งสารทั้งสองนี้มี xanthophylls เป็นสารอนุพันธ์ที่มีออกซิเจน) ที่มีความสามารถในการปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปความร้อนบริเวณศูนย์กลางปฏิกิริยา ดังนั้นจึงสามารถช่วยป้องกันหรือต่อต้านเนื้อเยื่อถูกทำลายได้ (Gorbunov *et al*., 2001; Venn *et al*., 2008) 2) กลไกยับยั้ง

การสังเคราะห์แสง (photoinhibition) ซึ่งเป็นกลไกที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงในกรณีที่ปะการังได้รับแสงในปริมาณที่มากเกิน ดังเช่น ปะการังที่อยู่บริเวณน้ำตื้นซึ่งเป็นบริเวณที่ได้รับแสงจากดวงอาทิตย์มากกว่าบริเวณน้ำลึก จะมีกระบวนการยับยั้งการสังเคราะห์แสงที่ศูนย์กลางปฏิกิริยา ประมาณ 10 – 20% (Gorbunov *et al*., 2001) โดยทั่วไปกลไกการป้องกันจากแสง (photoprotection mechanism) และกลไกยับยั้งการสังเคราะห์แสง (photoinhibition) มักเกิดพร้อมกันและสมดุลกัน (Franklin *et al*., 1996)

โดยทั่วไปปริมาณความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีในเซลล์เนื้อเยื่อปะการังจะมีความแตกต่างกันในช่วงปี ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ปริมาณแสง ธาตุอาหาร และอุณหภูมิ (Stimson, 1997) ดังนั้นปริมาณความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีจึงสามารถบ่งบอกถึงสภาพแวดล้อมและสุขภาพของปะการังในช่วงเวลานั้น ๆ ได้ จากการศึกษาของ Marubini และ Davies (1996) พบว่า การเพิ่มขึ้นของธาตุอาหารนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายซูแซนเทลลี เช่นเดียวกันกับปริมาณรงควัตถุและปริมาณโปรตีนต่อเซลล์สาหร่าย และการสังเคราะห์แสงรวมสูงสุด (maximum gross photosynthesis) และมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีสามารถบ่งชี้ได้ถึงสภาพแวดล้อม (เช่น มลพิษทางน้ำ และปริมาณแสง) และความอ่อนไหวต่อการฟอกขาวมีเพิ่มขึ้นในปะการังที่มีความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีสูง (Cunning and Baker, 2013) จากรายงานของ Wooldridge (2016) กล่าวว่า ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีช่วงที่เหมาะสมอยู่ที่ 1 x 106 - 3 x 106 cells cm-2

2.8 วิธีการดำเนินงานวิจัย

การเก็บตัวอย่างปะการังจากธรรมชาติ

ในการทดลองนี้ใช้ปะการัง 2 ชนิด ได้แก่ *Pocillopora acuta* และ *Porites lutea* โดยเก็บตัวอย่างปะการังที่มีสุขภาพดีทั้ง 2 ชนิด จากแนวปะการังโซนลาดชันความลึกประมาณ 4-5 เมตร บริเวณหน้าศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งทะเลอันดามัน แหลมพันวา จ.ภูเก็ต (7°48'6.26"N; 98°24'23.75"E) พร้อมทั้งเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำในแนวปะการัง เพื่อนำมาปรับสภาพตู้ทดลองให้ใกล้เคียงกับธรรมชาติ

ปะการังที่เก็บมาทั้งหมด 12 โคโลนี (*P. acuta* และ *P. lutea* อย่างละ 6 โคโลนี) ถูกขนย้ายจากแหลมพันวามายังห้องทดลองของสถานวิจัยฯ (COCC wet lab) โดยการบรรจุในถังที่ใส่น้ำทะเลขนาด 200 ลิตร พร้อมทั้งให้ออกซิเจนตลอดเวลา เมื่อถึงห้องทดลองจึงนำปะการังไปไว้ในตู้เลี้ยง (stock tank)

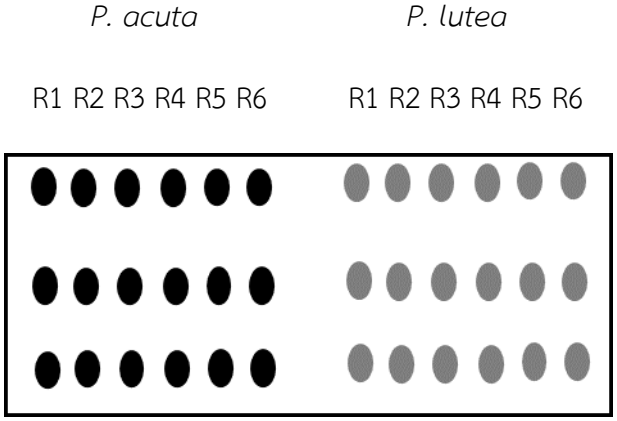
การเตรียมตู้ทดลองและปรับสภาพปะการัง

เตรียมตู้เลี้ยงขนาด 250 ลิตร จำนวน 1 ตู้ ตู้ทดลองขนาด 70 ลิตร จำนวน 4 ตู้ พร้อมชุดกรอง อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิ (chiller-heater) และชุดกำจัดของเสียที่ละลายน้ำ (protein skimmer) ในการเลี้ยงปะการังทั้งตู้เลี้ยงและตู้ทดลองใช้น้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และควบคุมให้อยู่ภายใต้สภาวะเลียนแบบธรรมชาติ ดังนี้ ความเค็ม 32 ppt, pH 8.3, อุณหภูมิ 27°C, ระดับความเข้มแสง 150 µmol photons m^{-2} s^{-1}, รอบแสงที่มีแสง:มืด (LD) 12:12 ชม. โดยเปิดไฟที่ 10:00 น. และปิดไฟที่ 22:00 น. ปะการังจากภาคสนามที่ปรับสภาพในตู้เลี้ยงประมาณ 1 สัปดาห์ นำมาตัดแบ่งเป็นชิ้นเล็กขนาดประมาณ 3 - 5 ซม. ทั้งหมด ชนิดละ 72 ชิ้น (โคโลนีละ 12 ชิ้น* 6 โคโลนี)

การออกแบบการทดลอง

ภาพที่ 4 แสดงแผนการทดลองในตู้ทดลองขนาด 70 ลิตร คัดเลือกปะการังจากที่ตัดแบ่งไว้นำมาเลี้ยงในแต่ละตู้ทดลอง โดยให้ปะการังทั้งสองชนิดอยู่ในตู้ทดลองเดียวกันชนิดละ 18 ชิ้น (มาจาก 6 โคโลนี* โคโลนีละ 3 ชิ้น) หลังจากปล่อยให้ปะการังปรับสภาพในตู้ทดลอง 5 วัน ซึ่งมีการตรวจวัดคุณภาพน้ำทะเลและสุขภาพปะการังทุกตู้อย่างต่อเนื่อง

การทดลองดำเนินการ 10 วัน ดังตารางที่ 1 ซึ่งแบ่งเป็นช่วงชักนำความเครียด (stress) ให้อุณหภูมิแตกต่างกันระหว่างชุดทดลอง 4 ตู้ ได้แก่ 27°C, 29.5°C, 32°C, 34.5°C และช่วงให้ปะการังฟื้นตัว (recovery) ที่ลดอุณหภูมิลง ในการทดลองเก็บตัวอย่างปะการังวันที่ 0, 5 และ 10 โดยตัวอย่างปะการังที่เก็บทั้งหมดถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 เพื่อนำไปวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไปในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4 ตู้ทดลองที่เลี้ยงปะการัง *P. acuta* และ *P. lutea* (R: replicate)

ตารางที่ 1 ชุดการทดลองและแผนการเก็บตัวอย่างปะการัง

วันที่ทดลอง	วันที่เก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิ (°C)			
		Treatment1	Treatment2	Treatment 3	Treatment 4
0	Initial	27	27	27	27
1		27	29.5	32	34.5
2		27	29.5	32	34.5
3		27	29.5	32	34.5
4		27	29.5	32	34.5
5	Stress	27	29.5	32	34.5
6		27	27	27	27
7		27	27	27	27
8		27	27	27	27
9		27	27	27	27
10	Recovery	27	27	27	27

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

นำตัวอย่างออกมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง และดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่าง ดังนี้

1 การสกัดเนื้อเยื่อ

- แยกเนื้อเยื่อปะการังออกจากโครงสร้างหินปูน ด้วยเครื่อง Waterpick (Nicefeel® Water Flosser Oral Irrigator Dental Care Power, Water Pik, Inc. USA) ซึ่งใช้น้ำทะเลกรอง (ผ่านกระดาษกรองขนาด 45 µm)

- นำสารละลาย (supernatant) ไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 4,000 rpm อุณภมิ 4°C, 4 min เทส่วนที่เป็นของเหลวออกและปรับปริมาตรให้ได้ น้ำใส 10 ml.

- แยกเซลล์สาหร่ายซูแซนเทลลีออกจากเนื้อเยื่อปะการังด้วยวิธี homogenization และแบ่งตัวอย่าง 1.5 ml เพื่อนำไปนับจำนวนสาหร่ายซูแซนเทลลี

- นำตัวอย่างที่เหลือไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งตามขั้นตอน 4.1.2 เทส่วนที่เป็นของเหลวออกและเก็บตัวอย่างที่ตกตะกอน (pellet) ด้านล่างของหลอดตัวอย่าง หลังจากนั้นเติม 90% acetone ปริมาตร 3 ml

ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ให้พ้นแสงเป็นเวลา 24 ชม. เพื่อนำไปหาปริมาณคลอโรฟิลล์ (chlorophyll *a* และ c_2)

2 การหาพื้นที่ผิวของชิ้นส่วนปะการัง

- นำชิ้นส่วนโครงร่างปะการังจากข้อ 3.4.1.1 ไปแช่ในสารฟอกขาว และตากไว้จนแห้ง

- ชั่งน้ำหนักชิ้นส่วนปะการัง และนำไปจุ่มขี้ผึ้ง (wax) ที่ละลายไว้ ณ อุณหภูมิ 65°C ทิ้งไว้ให้แห้งอุณหภูมิห้องจึงชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

- คำนวณส่วนต่างของน้ำหนักและนำไปเทียบกับ standard curve เพื่อคำนวณหาพื้นที่ผิวของปะการังแต่ละชิ้น ตามวิธีของ Veal et al. (2010)

3 ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี (ดัดแปลงจาก Al-hammady, 2013)

- นำตัวอย่างจากขั้นตอน 3.4.1.3 มาหยดลงบน hemocytometer สุ่มนับจำนวนสาหร่ายซูแซนเทลลีด้วย จำนวน 4 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง

- คำนวณปริมาณสาหร่ายซูแซนเทลลีเทียบกับปริมาตรของช่องบน hemocytometer (1 ช่อง = 0.1 µl หรือ 0.0001 ml.) ใช้สมการดังนี้

$$\text{จำนวนเซลล์ต่อปริมาตร} = \left(\frac{\text{ผลรวมของจำนวนที่นับเซลล์}}{\text{จำนวนช่องที่นับ}}\right) / 10^{-4} \text{ cell/ml.} \times \text{ปริมาตรทั้งหมด}$$

- คำนวณความหนาแน่นของซูแซนเทลลีต่อพื้นที่ผิวของปะการัง (cell/cm^2)

4 ปริมาณ chlorophyll *a* และ c_2

- นำตัวอย่างจากขั้นตอน 4.1.4 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงกับเครื่อง UV-visible Spectrophotometer (Metertech® W/SINGLE Cell Holder Cat. No.: 2MTT-SP-8001) ที่ความยาวคลื่น 630, 664 และ 750 nm.

- คำนวณปริมาณ Chlorophyll *a* และ c_2 ต่อปริมาตร ตามวิธีการของ Ritchie (2006) ดังสมการ

$$\text{Chlorophyll } a = 11.4754 \times (A_{664\ nm.} - A_{750\ nm.}) - 0.4574 \times (A_{630\ nm.} - A_{750\ nm.})$$

$$\text{Chlorophyll } c_2 = 23.390 \times (A_{630\ nm.} - A_{750\ nm.}) - 3.5322\ (A_{664\ nm.} - A_{750\ nm.})$$

- คำนวณปริมาณ Chlorophyll *a* และ c_2 ต่อต่อพื้นที่ผิวของปะการัง (µg/cm^2)

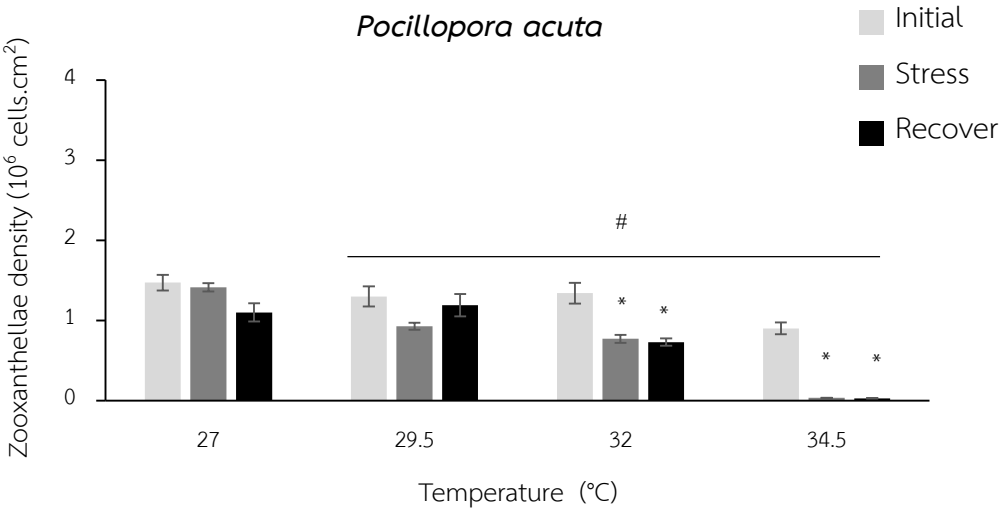
การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics22® โดยการทดสอบการกระจายของข้อมูล (normality test) และการเทากันของความแปรปรวน (homogeneity of variance test) ด้วยวิธี Kolmogorov-Smirnov Test และ Levene's Test ตามลำดับ หลังจากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-way ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปัจจัยอุณหภูมิและช่วงเวลาที่ปะการังได้รับความเครียด ซึ่งมีผลต่อความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี ปริมาณ chlorophyll *a* และ c_2 ตามด้วยการเปรียบกลุ่มตัวอย่าง (Post hoc test) ด้วยวิธี Tukey's HSD test

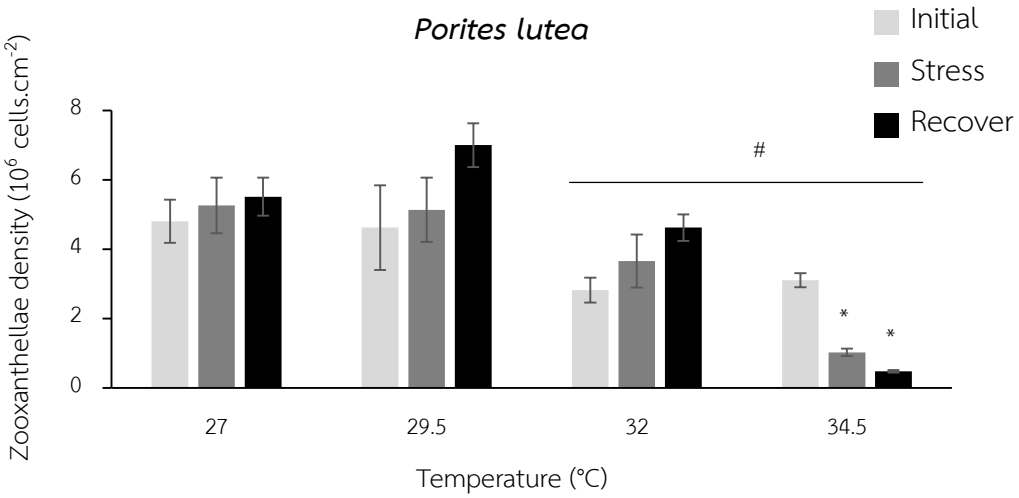
2.9 ผลการทดลอง

ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของอุณหภูมิในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าทุกชุดการทดลอง (29.5°C, 32°C, 34.5°C) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุม (27°C) สำหรับปะการัง *P. acuta* (ภาพที่ 5) แต่ในปะการัง *P. lutea* พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างชุดการทดลองอุณหภูมิ 32°C และ 34.5°C กับชุดควบคุม (27°C) (ภาพที่ 6) หากพิจารณาช่วงเวลาที่ได้รับความเครียด พบว่าปะการัง *P. acuta* มีความหนาแน่นซูแซนเทลลีลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งช่วง stress และ recovery ในชุดทดลองที่อุณหภูมิ 32°C และ 34.5°C ขณะที่ปะการัง *P. lutea* มีความหนาแน่นซูแซนเทลลีลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งช่วง stress และ recovery เพียงชุดทดลองที่อุณหภูมิ 34.5°C เท่านั้น



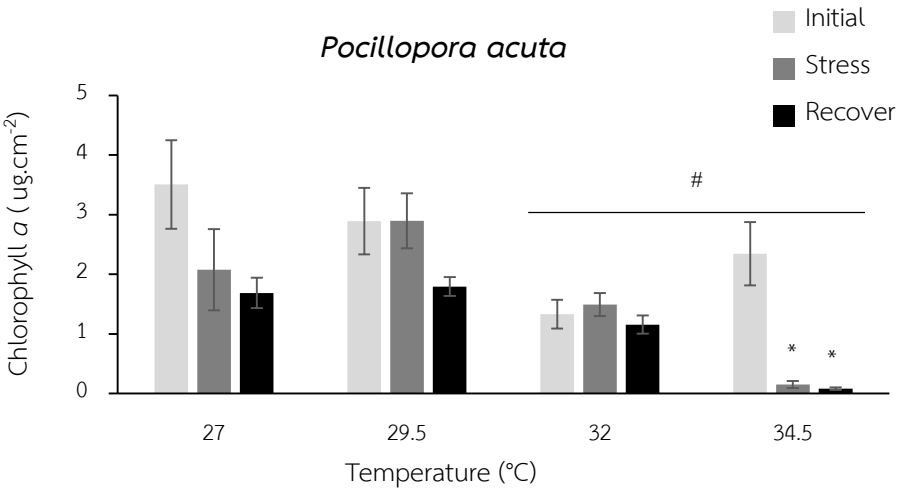
ภาพที่ 5 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของความหนาแน่นสาหร่ายซูแซนเทลลี (zooxanthellae density) ในปะการัง *P. acuta* โดย * และ # แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปัจจัยช่วงเวลาที่ปะการังได้รับความเครียด และปัจจัยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ตามลำดับ (Two-way ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's HSD)



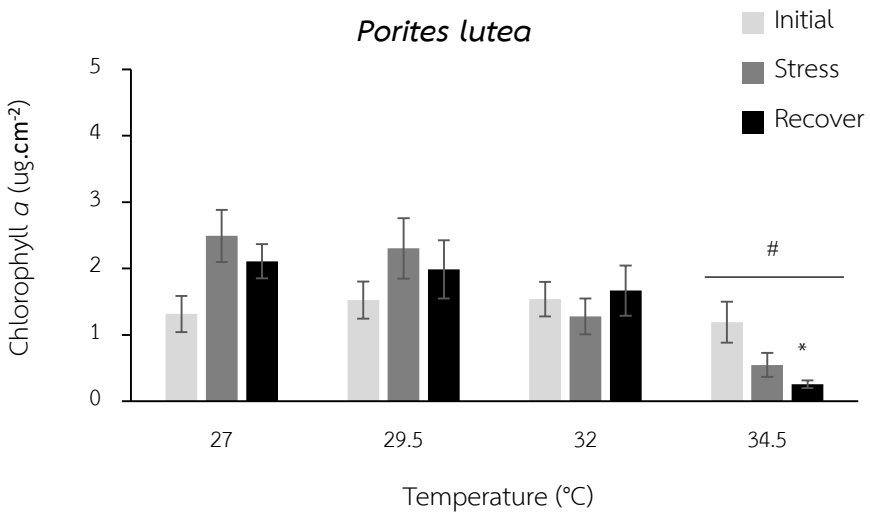
ภาพที่ 6 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของความหนาแน่นสาหร่ายซูแซนเทลลี (zooxanthellae density) ในปะการัง *P. lutea* โดย * และ # แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปัจจัยช่วงเวลาที่ปะการังได้รับความเครียด และปัจจัยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ตามลำดับ (Two-way ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's HSD)

ปริมาณ chlorophyll *a*

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของอุณหภูมิในแต่ละชุดการทดลองของปะการัง *P. acuta* พบว่าชุดการทดลองอุณหภูมิ 32°C และ 34.5°C มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุม (27°C) สำหรับปะการัง *P. lutea* พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เพียงชุดการทดลองอุณหภูมิ 34.5°C กับชุดควบคุม (27°C) (ภาพที่ X) หากพิจารณาช่วงเวลาที่ได้รับความเครียด พบว่าปริมาณ chlorophyll a ของปะการังทั้งสองชนิดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในชุดทดลองที่อุณหภูมิ 34.5°C



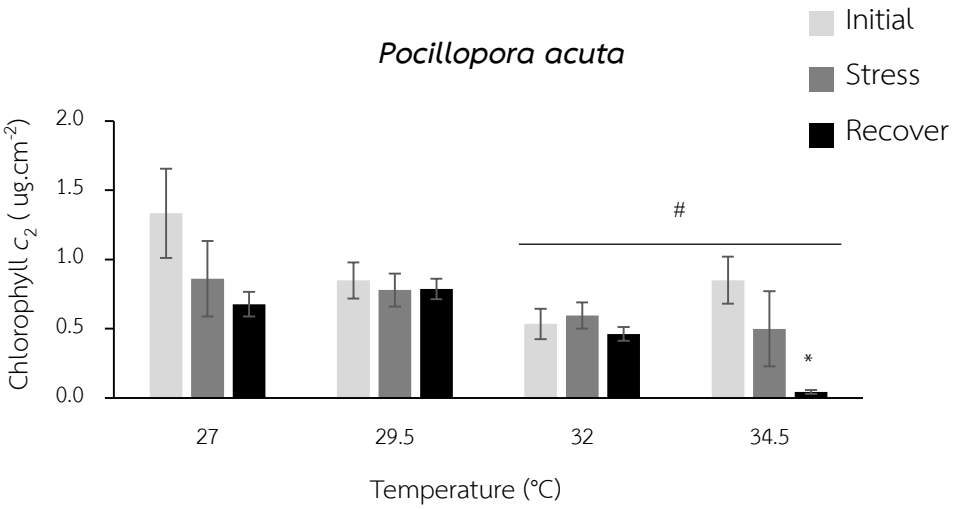
ภาพที่ 7 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของปริมาณ chlorophyll *a* ในปะการัง *P. acuta* โดย * และ # แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปัจจัยช่วงเวลาที่ปะการังได้รับความเครียด และปัจจัยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ตามลำดับ (Two-way ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's HSD)



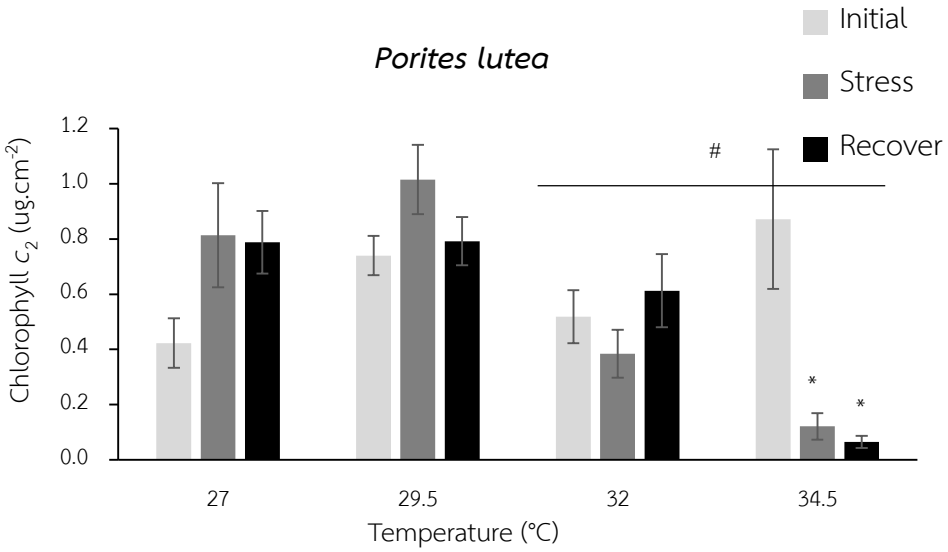
ภาพที่ 8 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของปริมาณ chlorophyll *a* ในปะการัง *P. lutea* โดย * และ # แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปัจจัยช่วงเวลาที่ปะการังได้รับความเครียด และปัจจัยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ตามลำดับ (Two-way ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's HSD)

ปริมาณ chlorophyll c_2

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของอุณหภูมิในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองอุณหภูมิ32°C และ 34.5°C ของปะการังทั้งสองชนิดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุม (27°C) (ภาพที่ X และ X) ในแง่ของปัจจัยช่วงเวลาที่ได้รับความเครียด พบว่าปริมาณ chlorophyll c2 ของปะการังทั้งสองชนิดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในชุดทดลองที่อุณหภูมิ 34.5°C



ภาพที่ 9 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของปริมาณ chlorophyll c_2 ในปะการัง *P. acuta* โดย * และ # แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปัจจัยช่วงเวลาที่ปะการังได้รับความเครียด และปัจจัยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ตามลำดับ (Two-way ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's HSD)



ภาพที่ 10 ค่าเฉลี่ย (mean±SE) ของปริมาณ chlorophyll c_2 ในปะการัง *P. lutea* โดย * และ # แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปัจจัยช่วงเวลาที่ปะการังได้รับความเครียด และปัจจัยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ตามลำดับ (Two-way ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's HSD)

2.10 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

จากการทดลองสรุปได้ว่าระดับอุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อปะการัง โดยปะการัง *Pocillopora acuta* มีความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีลดลง ในชุดการทดลองอุณหภูมิ 32°C และ 34.5°C ปริมาณของ chlorophyll *a*, c_2 ลดลงในชุกการทดลองอุณหภูมิ 34.5°C เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (27°C) สำหรับปะการัง *Porites lutea* มีความทนทานต่อการตอบสนองที่มากกว่า เนื่องจากความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณของ chlorophyll *a*, c_2 ลดลงเพียงชุดการทดลองอุณหภูมิ 34.5°C เท่านั้น เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (27°C) ดังนั้นขีดจำกัดอุณภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีและปริมาณคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อปะการังคืออุณหภูมิ 32°C ขึ้นไป

ผลการศึกษาเป็นไปตามสมมติฐานที่ผู้วิจัยได้ตั้งไว้และสอดคล้องกับผลการศึกษา ดังต่อไปนี้

1. ปะการังที่ต่างชนิดกันได้รับผลกระทบจากการฟอกขาวมากน้อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความความเปราะบาง หรือความต้านทานของปะการังและความสามารถในปรับตัวของสาหร่ายซูแซนเทลลี (LaJeunesse *et al*., 2003; Fautin & Buddemeier, 2004; Putchim, 2017)

2. โครงสร้างทางสรีรวิทยาที่แตกต่างกันทำให้ปะการัง *Porites lutea* มีความทนทานต่อการฟอกขาวมากกว่าปะการัง *Pocillopora damicornis* (Swain *et al*., 2017)

3. สาหร่ายซูแซนเทลลีที่พบอยู่กับปะการัง *Porites lutea* มีความหลากหลายมากกว่าสาหร่ายที่อยู่กับปะการัง *Pocillopora damicornis* (Chankong *et al*., 2018)

บทที่ 3

สรุปผลการปฏิบัติงาน

การปฏิบัติงานสหกิจศึกษาที่สถานวิจัยสมุทรศาสตร์ชายฝั่งและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Coastal oceanography and climate change research center; COCC) ตั้งแต่วันที่ 18 พฤศจิกายน พ.ศ. 2562 ถึงวันที่ 6 มีนาคม พ.ศ. 2563 โดย ดร.เมธิณี อยู่เจริญ ดร.เมธิณี อยู่เจริญ ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์ ชีววิทยาของปะการังและอนุกรมวิธานของปะการัง,ระบบนิเวศแนวปะการังและระบบนิเวศทางทะเลและการจัดการแนวปะการัง เป็นที่ปรึกษาในเรื่องการปฏิบัติงาน และหัวข้องานวิจัย โดยงานที่ได้รับผิดชอบเป็นงานส่วนต่างๆ ที่อยู่ในขอบเขตการรับผิดชอบของ COCC นอกจากนี้ยังรับผิดชอบการเป็นผู้ช่วยวิจัยจึงได้จัดทำมินิโปรเจคเรื่อง การเปลี่ยนแปลงของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *Pocillopora acuta* และ *Porites lutea* ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง (Change of zooxanthellae associated with *Pocillopora acuta* and *Porites lutea* under high temperature condition)

จากการปฏิบัติงานสหกิจศึกษาในครั้งนี้ ทำให้ได้นำความรู้และความสามารถที่ได้ศึกษาเรียนรู้จากหลักสูตรการเรียน สาขาชีววิทยา นำมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในการปฏิบัติงาน ได้เก็บเกี่ยวประสบการณ์ใหม่ๆ ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ในด้านวิชาการ และการใช้ชีวิต นอกจากนี้ยังเป็นการฝึกระเบียบวินัย ความรับผิดชอบ การตรงต่อเวลา การฝึกวางแผนการทำงาน และมีส่วนร่วมในการจัดทำกิจกรรมต่างๆ ภายในองค์กร ทำให้เกิดความพร้อมที่จะปฏิบัติงานจริงหลังจากจบการศึกษา เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อองค์กรหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

บทที่ 4

ปัญหาและข้อเสนอแนะ

1. ปัญหา

- ผลของงานวิจัยเรื่องที่ 1 ไม่สามารถเสร็จได้ตามระยะเวลาที่กำหนด จึงได้จัดทำวิจัยเรื่องที่ 2 ขึ้นใหม่ ทำให้ระยะเวลาของการดำเนินงานวิจัยในช่วงของการเขียนรูปเล่มมีระยะสั้น

2. ข้อเสนอแนะ

- ควรมีทักษาการสรุปเปเปอร์ให้มากกว่านี้ เพื่อลดระยะเวลาการในการอ้างอิงและการเขียนรูปเล่มงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สถานวิจัยสมุทรศาสตร์ชายฝั่งและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Coastal oceanography and climate change research center) http://www.cocc.psu.ac.th

Adey, W. H. (1998). Review-coral reefs: algal structured and mediated ecosystems in shallow, turbulent, alkaline waters. Journal of Phycology, 34(3), 393–406.

Brown, B. (1997). Coral bleaching: causes and consequences. Coral Reefs, 16(0), S129–S138.

Birkeland, C. (Ed.). (1997). Life and death of coral reefs. New York: Chapman & Hall.

Burke, L., Reytar, K., Spalding, M., Perry, A. (2011). Reefs at risk revisited. Washington, DC: World Resources Institute.

Buddemeier, R. W., Baker, A. C., Fautin, D. G., and Jacobs, J. R. (2004). The Adaptive Hypothesis of Bleaching. In E. Rosenberg and Y. Loya (Eds.), Coral Health and Disease (pp. 427–444).

Cesar, H., L. Burke, and L. Pet-Soede. (2003). The economics of worldwide coral reef degradation (3rd edition). Inspiration Company, Arnhem, Netherlands.

Cunning, R., and Baker, A. C. (2013). Excess algal symbionts increase the susceptibility of reef corals to bleaching. Nature Climate Change, 3(3), 259–262.

Douglas, A. E. (2003). Coral bleaching–how and why? Marine Pollution Bulletin, 46(4), 385–392.

Duckworth, A., Giofre, N., and Jones, R. (2017). Coral morphology and sedimentation. Marine Pollution Bulletin, 125(1–2), 289–300.

Fenner, Speicher and Gulick (2008) The State of Coral Reef Ecosystems of American Samoa

Glynn, P. W. (1993). Coral bleaching: ecological perspective. Coral Reefs 12, 1-17

Hoegh-Guldberg, O. (1999). Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. Marine and Freshwater Research, 50(8), 839.

Kench, P. S., and Owen, S. D. (2015). Coral Reef Systems and the Complexity of Hazards. In Coastal and Marine Hazards, Risks, and Disasters (pp. 431–465).

Kinsey, D. W., and Hopley, D. (1991). The significance of coral reefs as global carbon sinks response to Greenhouse. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, *89* (4), 363–377.

Kavousi, J., Tanaka, Y., Nishida, K., Suzuki, A., Nojiri, Y., and Nakamura, T. (2016). Colony-specific calcification and mortality under ocean acidification in the branching coral Montipora digitata. Marine Environmental Research, 119, 161–165.

Lamb, J. B., True, J. D., Piromvaragorn, S., and Willis, B. L. (2014). Scuba diving damage and intensity of tourist activities increases coral disease prevalence. Biological Conservation, 178, 88–96.

Marubini, F., and Davies, P. S. (1996). Nitrate increases zooxanthellae population density and reduces skeletogenesis in corals. Marine Biology, 127(2), 319–328.

Phongsuwan, N., Chankong, A., Yamarunpatthana, C., Chansang, H., Boonprakob, R., Petchkumnerd, P.,Bundit, O.-A. (2013). Status and changing patterns on coral reefs in Thailand during the last two decades. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 96, 19–24.

Wilkinson, C. (2008). Status of coral reefs of the world: 2008. Global Coral Reef Monitoring Network and Reef and Rainforest Research Centre, Townsville, Australia, 296 p.

Swain, Bold, Osborn, Baird, Westneat, Backman and Marcelin (2018) Physiological integration of coral colonies is correlated with bleaching resistance

Zhou, Cai, Li, Tong, Jiang, Zhang, Lei, Guo, Liu, Qian, and Huang (2017) Temperature-Driven Local Acclimatization of Symbiodnium Hosted by the Coral Galaxea fascicularis at Hainan Island, China