โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ผลของความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดงต่อการเจริญเติบโตของปะการังเขากวาง *Acropora humilis* ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

Effects of blue and red light wavelength on the development of *Acropora humilis* at different ages

ชื่อนิสิต นางสาวสุภัชชา จ่าปะคัง **เลขประจำตัว** 6032835723

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลของความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดงต่อการเจริญเติบโตของปะการังเขากวาง *Acropora humilis* ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

นางสาวสุภัชชา จ่าปะคัง

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Effects of blue and red light wavelength on the development of *Acropora humilis* at different ages

Miss Supatcha Japakang

A Senior Project in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science in Marine Science
Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Academic Year 2021

หัวข้อโครงงาน ผลของความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดงต่อการเจริญเติบโตของปะการังเขากวาง *Acropora humilis* ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

โดย นางสาวสุภัชชา จ่าปะคัง

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงการฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2309499 โครงงานวิทยาศาสตร์

..... หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

(ศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิยกาญจน์)

คณะกรรมการสอบโครงงาน

..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์. ดร. สมฤดี จิตประไพ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปัทมา สิงหรักษ์)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร. สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์)

Project Title	Effects of blue and red light wavelength on the development of *Acropora humilis* at different ages in Chonburi, Thailand
By	Miss Supatcha Japakang
Field of Study	Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Advisor	Assoc. Prof. Suchana Chavanich, Ph. D.

Accepted by the Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfilment of the Requirement for the Bachelor's Degree.

..... Head of Marine Science Department

(Prof. Voranop Viyakarn, Ph. D.)

PROJECT COMMITEE

..... Project Advisor

(Assoc. Prof. Suchana Chavanich, Ph. D.)

Somrudee Jitpraphai ..... Member

(Asst. Somrudee Jitpraphai, Ph. D.)

P. Singhruck ..... Member

(Asst. Patama Singhruck, Ph. D.)

..... Member

(Sutaporn Bunyajetpong, Ph. D.)

ชื่อโครงการ ผลของความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดงต่อการเจริญเติบโตของปะการังเขากวาง *Acropora humilis* ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

ชื่อนิสิต นางสาวสุภัชชา จ่าปะคัง

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์

ปีการศึกษา 2563

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ปะการังเป็นสิ่งมีชีวิตที่อยู่อาศัยร่วมกับสาหร่ายเซลล์เดียว (zooxanthellae) ในลักษณะพึ่งพาอาศัย สาหร่ายซูแซนเทลลีสามารถถ่ายทอดพลังงานมากถึง 95 เปอร์เซ็นต์แก่ปะการังผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ด้วยเหตุนี้แสงจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิตของปะการัง จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า แสงในช่วงความยาวคลื่นสีน้ำเงินส่งผลให้ปะการังสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าคลื่นแสงสีขาว (แสงธรรมชาติ) และสีแดง อย่างไรก็ตาม ที่ผ่านยังไม่ปรากฏการศึกษาเกี่ยวกับความแตกต่างในการตอบสนองของช่วงคลื่นแสงดังกล่าวในปะการังระยะวัยอ่อนและระยะโตเต็มวัยในปะการังเขากวาง *Acropora humilis* การศึกษาครั้งนี้จึงใช้ปะการังเขากวาง *A. humilis* ที่ได้จากการเพาะขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศในช่วงอายุ 2 ปี และปะการังระยะโตเต็มวัยจากธรรมชาติอายุมากกว่า 5 ปี นำมาทดลองในช่วงคลื่นแสงสีน้ำเงินและแสงสีแดงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยทำการเก็บตัวอย่างในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง เพื่อนำตัวอย่างมาศึกษาความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีโดยการสุ่มนับจำนวนเซลล์และการตรวจวิเคราะห์ความหลากหลายสกุลของสาหร่ายด้วยวิธีการทางชีวโมเลกุล จากผลการศึกษาพบว่าแสงสีน้ำเงินช่วยเพิ่มการเติบโตของปะการังระยะโตเต็มวัยได้ดีกว่าแสงสีแดง ทำให้มีความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีสูงกว่า แต่ในปะการังระยะวัยอ่อนแสงสีน้ำเงินและแสงสีแดงไม่ได้ให้ผลต่างกันอย่างมีนัยยะสำคัญ จึงกล่าวได้ว่าการตอบสนองของปะการังต่อความยาวคลื่นแสงที่แตกต่างกันจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยทางด้านอายุของปะการังด้วย

คำสำคัญ ปะการัง, การเติบโตของปะการัง, สาหร่ายซูแซนเทลลี, ความยาวคลื่นแสง

Project Title Effects of blue and red light wavelength on the development of *Acropora humilis* at different ages in Chonburi, Thailand
Name Miss Supatcha Japakang
Advisor Assoc. Prof. Suchana Chavanich, Ph. D.
Academic Year 2020
Department Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

---

Abstract

Hermatypic corals are marine organisms that have a mutually beneficial symbiotic relationship with single-cell algae called zooxanthellae. Those algae are embedded in coral tissue and can provide approximately 95 percent of the energy generated through photosynthesis for their host. Thus, light plays a significant role in coral growth. Previous studies revealed that altered light spectrums have different influences on zooxanthellae density and coral's health. Blue light gives a positive result, higher zooxanthellae density and growth rate than white and red light. However, prior studies have not investigated the different responses among juvenile and adult coral *Acropora humilis.* In this study, we cultivate 2-year-old cultured corals from sexual propagation, and above 5-year-old collected corals under blue and red light treatments (12/12 h light-and-dark cycle) for eight weeks. Samples were collected on the second and eighth week to quantify zooxanthellae density and qualify genetic biodiversity. The result from the altered light spectrum experiment on adult corals showed that blue light affects growth by enhancing the zooxanthellae density. While on the contrary, red light resulted in lower zooxanthellae density. However, blue and red light did not show a significant difference in the growth of juvenile coral.

Keywords Coral growth, zooxanthellae density, Light spectrum

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเรียนการสอนเพื่อส่งเสริมประสบการณ์เรื่อง ผลของความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดงต่อการเจริญเติบโตของปะการังเขากวาง *Acropora humilis* ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย สามารถดำเนินการสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีและบรรลุวัตถุประสงค์ดังที่ได้ตั้งไว้ ด้วยความช่วยเหลือและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์จากคณาจารย์ เจ้าหน้าที่บุคลากร และบุคคลหลายฝ่าย ประกอบกับทั้งความตั้งใจของผู้วิจัยและไม่ย่อท้อต่อปัญหาหรืออุปสรรคที่เกิดขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ รองศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์ ผู้ให้คำปรึกษา ข้อคิดเห็นและแนวทางในการดำเนินโครงการที่เป็นประโยชน์อย่างสูง ตลอดจนให้ทุนทรัพย์เพื่อใช้สำหรับการทำการวิจัย ทำให้โครงการนี้สามารถดำเนินไปได้อย่างเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศานิต ปิยพัฒนากร ผู้ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำเกี่ยวกับการทดลองในส่วนของการสกัดสารพันธุกรรม ทำให้สามารถแก้ไขปัญหาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ขอขอบพระคุณคณะอาจารย์ผู้ดูแลวิชา SENIOR PROJECT ศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิยกาญจน์, รองศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมฤดี จิตประไพ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปัทมา สิงหรักษ์ และอาจารย์ ดร. สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์ ที่คอยให้ข้อเสนอแนะตลอดมา

ขอขอบคุณ นางสาวศุภกาญจน์ จันทร์แดง เป็นอย่างมากที่ให้ความช่วยเหลือในการวางแผน เก็บตัวอย่าง ทำการทดลอง ตลอดจนให้ความรู้เกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์ผลการทดลอง อีกทั้งยังให้คำปรึกษาทางด้านต่าง ๆ ทำให้ผู้วิจัยได้เรียนรู้เพิ่มเติมในหลากหลายด้าน

ขอขอบคุณพี่แว่น และกลุ่มการวิจัยชีววิทยาแนวปะการัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และตัวอย่างสำหรับการทำโครงการครั้งนี้ และคอยให้ความช่วยเหลือในด้านที่ผู้วิจัยไม่เคยมีประสบการณ์มาก่อน

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล นายปรีชา เสนสิทธิ์ ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการทางเคมี และนายอับดุลเล๊าะ สิดิ ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการทางชีววิทยา ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์

ขอขอบพระคุณครอบครัวของผู้วิจัยที่ได้ให้การสนับสนุนทั้งในเรื่องของการจัดหาอุปกรณ์ การเดินทาง และกำลังใจ ขอบคุณเจ้าธันวาที่คอยเป็นที่พึ่งพิงทางจิตใจ ขอบคุณเพื่อน ๆ นิสิตทุกท่านที่คอยให้การสนับสนุนทั้งทางตรงและทางอ้อม ทำให้ผู้วิจัยสามารถดำเนินโครงการได้อย่างสำเร็จ

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านและขอบคุณบุคคลรอบข้างทุกคน ที่ให้ผู้วิจัยได้มีโอกาสพัฒนาความรู้ ความคิด และทักษะความสามารถ จนสามารถทำให้โครงการนี้ประสบความสำเร็จได้

นางสาวสุภัชชา จ่าปะคัง

ผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก
Abstract ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญรูป ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ช
บทที่ 1 บทนำ 8
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา 8
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ 8
1.3 ขอบเขตการศึกษา 8
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 9
บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง 10
2.1 ปะการัง 10
2.1.1 ชีววิทยาของปะการัง 10
2.1.2 สาหร่ายซูแซนเทลลี 11
2.1.3 ปะการังเขากวาง *Acropora humilis* 12
2.1.4 การฟอกขาวของปะการัง 12
2.2 แสง 13
2.2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับแสง 13
2.2.2 ผลของแสงต่อปะการังและสาหร่ายซูแซนเทลลี 14
บทที่ 3 วิธีการศึกษา 16
3.1 การเก็บตัวอย่างปะการัง 16
3.2 การทดลองเลี้ยงปะการังในสภาพแสงที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกัน 16
3.3 ทำการศึกษาลักษณะและการเจริญเติบโตของปะการัง 16

3.3.1 สีของปะการัง....17
3.3.2 ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี....17
3.3.3 การวิเคราะห์ชนิดของสาหร่ายซูแซนเทลลี....18
บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล....23
4.1 สุขภาพของปะการัง....23
4.2 ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี....23
4.3 ชนิดของสาหร่ายซูแซนเทลลี....24
บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ....26
5.1 สรุปผลการศึกษา....26
5.2 ข้อเสนอแนะ....26
เอกสารอ้างอิง....27
ภาคผนวก....29

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ลักษณะของปะการัง 10
รูปที่ 2.2 รูปแบบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของปะการัง 11
รูปที่ 2.3 ภาพถ่ายปะการังเขากวาง *Acropora humilis* 12
รูปที่ 2.4 ปะการัง *Mussa angulosa* ที่ฟอกขาว 13
รูปที่ 2.6 แสงที่ส่องผ่านชั้นน้ำตามระดับความลึก 14
รูปที่ 2.7 แผนภูมิแสดงความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี 15
รูปที่ 3.1 ตู้สำหรับการเพาะปะการัง 16
รูปที่ 3.2 แผนภูมิสุขภาพปะการัง 17
รูปที่ 3.3 แสดงขั้นตอนในการศึกษาความหนาแน่นของซูแซนเทลลี 18
รูปที่ 3.4 รูปแสดงขั้นตอนบางส่วนของการสกัดสารพันธุกรรม 20
รูปที่ 3.5 เจลอิเลคโตรโฟริซิสของสารพันธุกรรมที่ผ่านการเพิ่มจำนวนที่ส่องภายใต้แสง UV 21
รูปที่ 4.1 ภาพปะการังก่อนการทดลอง 2 ระหว่างการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ที่เลี้ยงภายในสภาพแสงต่าง ๆ (แสงธรรมชาติ แสงสีแดง และแสงสีน้ำเงิน) 23
รูปที่ 4.2 แผนภูมิแสดงความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *Acropora humilis* 24
รูปที่ 4.3 แผนภูมิต้นไม้แสดงสายวิวัฒนาการของสาหร่ายซูแซนเทลลี 25

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ **3.1** แสดงระดับสุขภาพของปะการัง (Udomsap, 2018) 17

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา

แสงเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปะการัง เนื่องจากปะการังมีการอาศัยอยู่ร่วมกันกับสาหร่ายซูแซนเทลลี (zooxanthellae) ซึ่งเป็นแหล่งผลิตพลังงานหลักมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ให้กับปะการัง โดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมกับการสังเคราะห์ด้วยแสงเรียกว่า PAR หรือ Photosynthetically Active Radiation คือแสงในช่วง 400 ถึง 700 นาโนเมตร แต่ปกติในมหาสมุทรแล้วเมื่อแสงผ่านตัวกลางคือน้ำทะเลก็จะมีความเข้มแสงลดลง และแสงที่มีความยาวคลื่นสั้นอย่างสีน้ำเงินจะสามารถผ่านลงไปลึกกว่าแสงสีแดงที่มีความยาวคลื่นยาวกว่า (Osinga *et al*., 2008)

จากการศึกษาของ Wijgerde *et al*. (2014) พบว่าช่วงความยาวคลื่นของแสงสีน้ำเงินที่ความยาวคลื่นสูงสุด 452 นาโนเมตรมีผลเร่งการเจริญเติบโตของปะการัง รวมไปถึงช่วยเพิ่มความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โปรตีนที่สร้างรงควัตถุประเภทฟลูออเรสเซนต์ และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่วนแสงสีแดงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 665 นาโนเมตร นั้นลดอัตราการแบ่งเซลล์แบบ mitotic ของ Symbiodinium sp. ซึ่งเป็นหนึ่งในสาหร่ายซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่กับปะการังบางชนิด อีกทั้งยังเร่งให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อ (necrosis) อีกด้วย

แสงมีผลต่อสุขภาพและอัตราการอยู่รอดของปะการัง แต่ที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาผลของความแตกต่างอันเนื่องมาจากความยาวคลื่นในช่วงของแสงสีน้ำเงินและสีแดง ต่อปริมาณสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการังเขากวาง *Acropora humilis* ซึ่งความแตกต่างของอายุและชนิดพันธุ์ของปะการังอาจทำให้ได้ผลที่แตกต่างกัน

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาผลของความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดง ต่อการเจริญเติบโตของปะการังเขากวาง *Acropora humilis* ในแง่ของความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีและสีของเนื้อเยื่อปะการัง
2. เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการตอบสนองของปะการังในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย
3. เพื่อศึกษาชนิดของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง

1.3 ขอบเขตการศึกษา

การทดลองเพาะเลี้ยงปะการังเขากวางชนิด *Acropora humilis* วัยอ่อน (อายุประมาณ 2 ปี) และตัวเต็มวัย (อายุประมาณ 5 ปี) ในโรงเพาะที่ติดตั้งระบบน้ำหมุนเวียน ภายใต้ 3 สภาพแสงที่แตกต่างกันได้แก่ แสงธรรมชาติ ความยาวคลื่นแสงสีแดง และความยาวคลื่นแสงสีน้ำเงิน ดำเนินการเป็นระยะเวลาทั้งหมด 8 สัปดาห์ ตัวอย่างปะการังวัยอ่อนที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในโรงเพาะ จำนวน 12 ชิ้น น้ำลึกเพื่อเก็บปะการังวัยตัวเต็มวัยที่เพาะเลี้ยงไว้ในทะเล โดยเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการแยกส่วน (fragmentation) เลือกเก็บกิ่งที่มีขนาดประมาณ 5 เซนติเมตร ทั้งหมด 15 ชิ้น แล้วนำมาติดไว้บนฐานแผ่นกระเบื้อง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

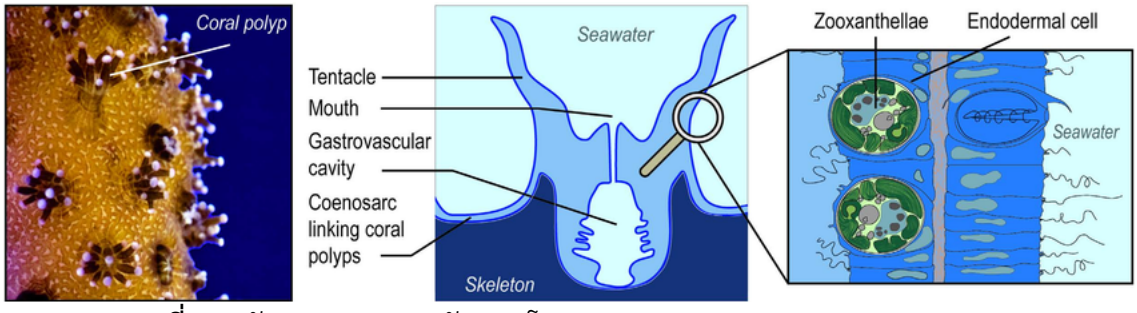
1. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของความยาวคลื่นแสงกับความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี และสุขภาพของปะการังในแต่ละช่วงอายุ
2. มีความเข้าใจมากขึ้นเกี่ยวกับการตายของเนื้อเยื่อปะการัง
3. สามารถนำไปปรับใช้ในการเพาะปะการัง เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการอยู่รอด

บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปะการัง

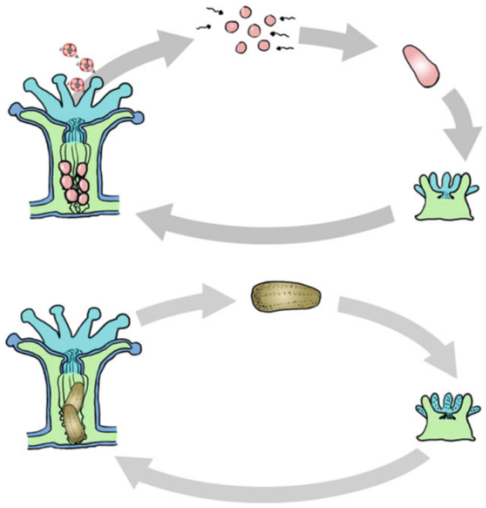
2.1.1 ชีววิทยาของปะการัง

ปะการังเป็นสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลัง จัดอยู่ในไฟลัม (Phylum) Cnidaria ชั้น (Class) Anthozoa อันดับ (Order) Scleractinia ซึ่งมีลักษณะทั่วไปคือประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้น ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายปาก 1 ช่อง มีหนวด (tentacle) อยู่รอบ ๆไว้ใช้จับอาหาร รูปแบบการดำรงชีวิตเป็นแบบโพลิป (polyp) คือเมื่อลงเกาะแล้วจะอยู่กับที่ ปะการังบางชนิดมีการอยู่รวมกันของหลายโพลิปเรียกว่าโคลนี (colony) ปะการังกลุ่มที่มีการสร้างโครงร่างแข็งประกอบแคลเซียมคาร์บอนเนต (calcium carbonate) ในบางชนิดมีการอาศัยอยู่ร่วมกับสาหร่ายซูแซนเทลลี (hermatypic coral) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักของปะการังเหล่านี้ ทำให้สามารถเจริญเติบโตและสร้างแนวปะการังได้รวดเร็วกว่ากลุ่มที่ไม่มีการอาศัยอยู่กับสาหร่ายซูแซนเทลลี (ahermatypic coral) (Hidaka, 2016)



รูปที่ 2.1 ลักษณะของปะการัง ภาพโดย C. Godinot (Godinot *et al*., 2016)

ปะการังสามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนั้นสามารถแบ่งย่อยได้อีกเป็นสองแบบได้แก่ กลุ่มที่ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาผสมกันในมวลน้ำ (broadcast spawner) และกลุ่มที่มีการปฏิสนธิภายใน (brooder) ดังรูปภาพที่ 2.2 จากการศึกษาของ Kojis (1986) พบว่า กลุ่มที่ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาผสมในมวลน้ำส่วนมากจะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่ไม่มีสาหร่ายซูแซนเทลลีปนอยู่ ดังนั้นรุ่นลูกที่เกิดจากการผสมพันธุ์แบบนี้ จะมีการถ่ายทอดสาหร่ายซูแซนเทลลีจากสิ่งแวดล้อมโดยตรง (horizontal transmission) เข้ามาในเซลล์ช่วงระยะพลานูลา (planula) แต่ในปะการังบางสกุลสาหร่ายซูแซนเทลลีก็สามารถเข้ามาสู่ไข่ (oocyte) ก่อนที่จะเกิดการวางไข่ได้ ส่วนในปะการังกลุ่มที่ปฏิสนธิภายในเกือบทั้งหมดจะมีการส่งต่อสาหร่ายซูแซนเทลลีจากรุ่นแม่สู่รุ่นลูกได้ (vertical transmission) จะมีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่จะปล่อยตัวอ่อนที่ไม่มีการอาศัยอยู่ร่วมกับสาหร่ายซูแซนเทลลี



รูปที่ 2.2 รูปแบบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของปะการัง โดยภาพบนแสดงการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาผสมกันในมวลน้ำ (broadcast spawning) และภาพล่างคือการปฏิสนธิภายใน (brooding) แล้วปล่อยตัวอ่อน (planula larvae) ออกมา, ภาพโดย Dwi Haryanti (Hidaka, 2016)

ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ปะการังสามารถทำได้เมื่อเกิดการแตกหักของกิ่ง (fragmentation) โดยในธรรมชาติอาจเกิดขึ้นได้จากการที่มวลน้ำเคลื่อนตัวเร็ว หรือในปะการังบางชนิดเมื่อต้องเผชิญกับสภาวะเครียด โพลิปสามารถเปลี่ยนกลับเป็นเนื้อเยื่อเจริญ (dedifferentiation) ที่มีรูปร่างคล้ายตัวอ่อนแล้วหลุดออกจากโคโลนีแม่ได้ (polyp bailout) (Sammarco, 1982)

2.1.2 สาหร่ายซูแซนเทลลี

สาหร่ายซูแซนเทลลีคือกลุ่มของไดโนแฟลกเจลเลต (Dinoflagellate) ซึ่งเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ เนื่องจากมีรงควัตถุเช่น คลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll a) คลอโรฟิลล์ซี (chlorophyll c) และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) (Kinzie *et al*., 1984) มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ของพลังงานที่สาหร่ายซูแซนเทลลีสร้างผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงถูกส่งต่อให้กับโพลิปของปะการัง (Muscatine, 1990) ในการศึกษาเกี่ยวกับสาหร่ายซูแซนเทลลีในยุคต้น ๆนั้นพบว่า สาหร่ายซูแซนเทลลีนั้นมีหลากกลุ่ม (clade) ตั้งแต่ A ถึง G โดยแต่ละกลุ่มมีลักษณะทั้งทางด้านสัณฐานวิทยา ชีวเคมี สรีรวิทยา พฤติกรรม และพันธุกรรมแตกต่างกันออกไป ส่งผลให้ปะการังมีระดับความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมไม่เท่ากัน ในยุคปัจจุบันในงานวิจัยของ LaJeunesse *et al.* (2018) ได้มีการเสนอสกุลใหม่ในวงศ์ (family) Symbiodiniaceae ได้แก่ *Symbiodinium* ที่ส่วนมากจะพบในปะการังที่มีลักษณะเป็นแนว *Breviolum* พบในแถบทะเลแคริเบียน *Cladocopium* พบมากที่สุดในกลุ่มสัตว์ที่พบในแนวปะการังเช่น ปะการัง ฟองน้ำ หอยมือเสือ ส่วน *Durusdinium* มีความทนทานต่อความร้อนสูงและต้านทานการฟอกขาวของปะการังได้ดีที่สุด และที่เหลือคือ *Effrenium Fugacium* และ *Grakladium*

2.1.3 ปะการังเขากวาง *Acropora humilis*

ปะการังเขากวางสกุล *Acropora* สามารถพบได้หลายพื้นที่ในโลก โดยเฉพาะเขตอินโดแปซิฟิก โดยปะการังกลุ่มนี้มีความหลากหลายของชนิดสูง ในประเทศไทยปะการังเขากวางจัดเป็นชนิดเด่น สามารถพบได้ทั้งในอ่าวไทยและอันดามัน โดยปกติแล้วพบเป็นปะการังกลุ่มนี้ร่วมกับปะการังโขดวงศ์ (family) Poritidae และ Faviidae โดยปะการังเขากวาง *Acropora* นั้น มักจะพบเป็นชนิดเด่นในแนวโขดลาดชัน (reef slope) จากการวิจัยของ Chankong & Manthachitra (2006) พบว่าปะการังสกุล *Acropora* ในประเทศไทยพบทั้งหมดรวม 37 ชนิด หนึ่งในนั้นคือ *Acropora humilis* ปะการังเขากวางชนิดนี้มีลักษณะคล้ายนิ้วมือ กิ่งมีขนาดใหญ่ โครงสร้างหินปูนปลายกิ่ง (axial corallite) สามารถสังเกตเห็นได้ชัด ส่วนโครงสร้างหินปูนรอบกิ่ง (radial corallite) มีลักษณะหนาและสั้น (van der Meij & Visser, 2011)

(ก) (ข)

รูปที่ 2.3 ภาพถ่ายปะการังเขากวาง *Acropora humilis* จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย โดยภาพ (ก) แสดงให้เห็นถึงโครงสร้างหินปูนปลายกิ่ง และรูป (ข) แสดงให้เห็นถึง โครงสร้างหินปูนรอบกิ่ง

2.1.4 การฟอกขาวของปะการัง

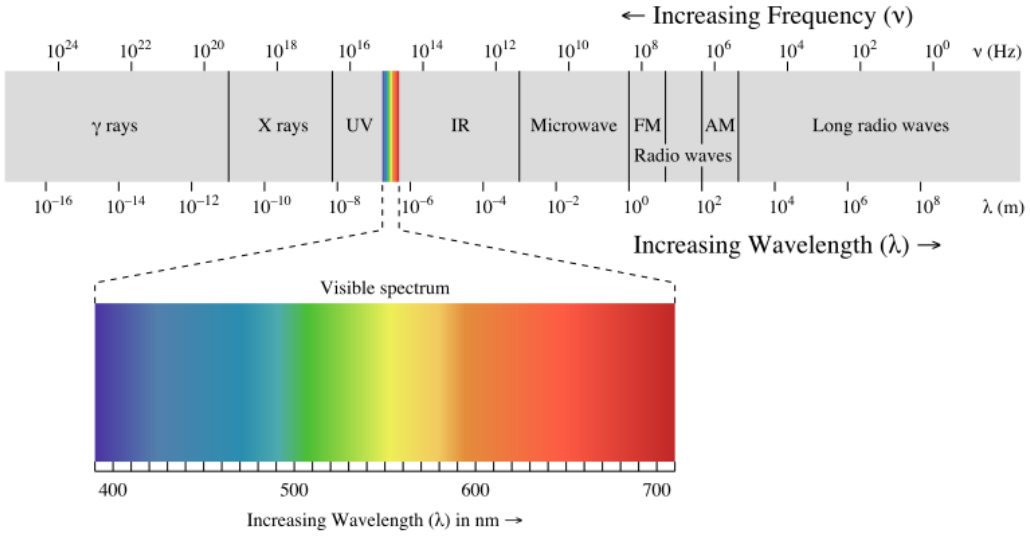
ในสภาวะที่อุณภูมิและแสงไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดความเครียดต่อปะการัง นำไปสู่ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวได้ เนื่องจากปัจจัยดังกล่าวจะทำลายระบบแสง (photosystem) ของสาหร่ายซูแซนเทลลี ความเสียหายที่เกิดขึ้นส่งผลให้เกิดการสารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) และเมื่อสารเหล่านี้ไหลเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน (host) ก็จะทำให้เนื้อเยื่อของปะการังถูกทำลาย ปะการังจึงต้องขับสาหร่ายซูแซนเทลลีออกเพื่อลดระดับความเสียหายลง เราจึงสามารถสังเกตเห็นได้ว่าเนื้อเยื่อของปะการังจะมีสีจางลงเป็นใสไม่มีสี ดังรูปที่ 2.4 การที่สาหร่ายซูแซนเทลลีถูกขับออกไปทำให้แหล่งพลังงานหลักหายไป ถ้าปะการังไม่สามารถฟื้นฟูได้อาจจะนำไปสู่การตายของปะการัง (Nielsen *et al*., 2018)

รูปที่ 2.4 ปะการัง *Mussa angulosa* ที่ฟอกขาว ภาพโดย Hickerson (https://flowergarden.noaa.gov/education/bleaching.html)

2.2 แสง

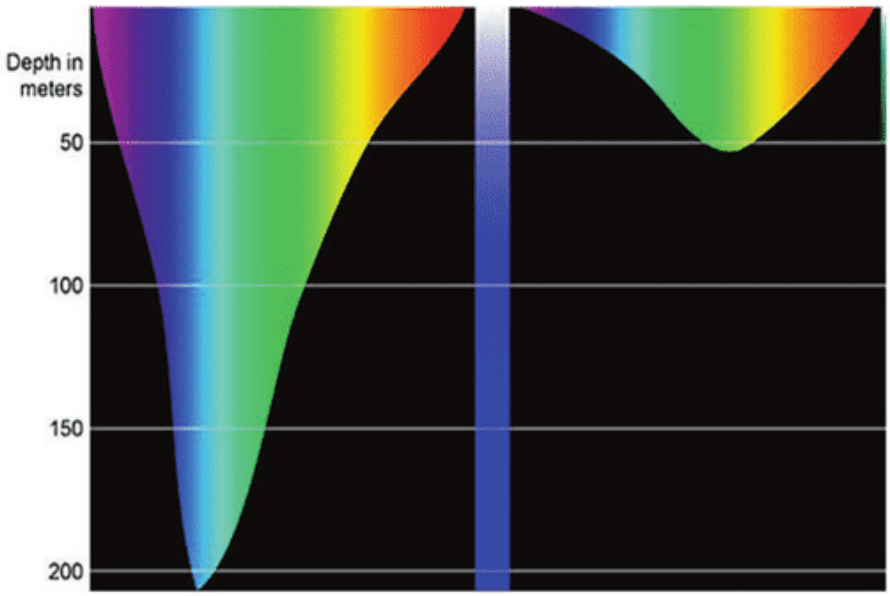
2.2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับแสง

แสงมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตในทะเล ทั้งในแง่ของอุณหภูมิ เป็นแหล่งพลังงานให้กับแพลงก์ตอนพืช เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสง ใช้เพื่อการบอกทิศทางของสัตว์ที่อาศัยอยู่บริเวณผิวหน้าน้ำทะเล แสงเป็นคลื่นเสปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic spectrum) ความยาวคลื่นที่สิ่งมีชีวิตสามารถมองเห็นและใช้ในการสังเคราะห์แสงได้ (PAR หรือ Photosynthetically Active Radiation) นั้นอยู่ในช่วง 400 ถึง 700 นาโนเมตร (Stewart, 2008)



รูปที่ 2.5 ช่วงของความยาวคลื่นแสงที่สามารถมองเห็นได้ ภาพโดย Philip Ronan (https://manoa.hawaii.edu/exploringourfluidearth/physical/ocean-depths/light-ocean)

แสงเดินทางผ่านตัวกลางที่เป็นน้ำทะเลได้ช้ากว่าในอากาศ เมื่อแสงตกกระทบผิวหน้าน้ำทะเล บางส่วนจะเกิดการสะท้อน (reflect) และถูกดูดกลืน (absorb) ยิ่งแสงส่องผ่านน้ำทะเลลงไปลึกเท่าไหร่ ความเข้มแสงก็จะลดลงตามความลึกเท่านั้น นอกจากความเข้มแสงที่เปลี่ยนไปแล้ว องค์ประกอบของความยาวคลื่นแสง (light spectral composition) ก็เปลี่ยนไปด้วย โดยความลึกที่แสงสามารถส่องผ่านลงไปได้นั้นแปรผกผันกับความยาวคลื่น กล่าวคือ ถ้าหากแสงมีพลังงานสูง ความยาวคลื่นต่ำ จะสามารถส่องผ่านชั้นน้ำลงไปได้ลึก แสงสีน้ำเงินในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 500 นาโนเมตร จะสามารถส่องผ่านชั้นน้ำลงไปได้ลึกประมาณ 100 เมตร ในขณะที่แสงสีแดงในช่วงความยาวคลื่น 600 ถึง 700 นาโนเมตรจะหายไปตั้งแต่ความลึกที่ 1 ถึง 5 เมตรนับจากผิวหน้าน้ำทะเล ดังรูปที่ 2.6 ทั้งนี้นอกจากความโปร่งใสของน้ำทะเลแล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น สภาพภูมิอากาศ ฤดูกาล และตำแหน่งของดวงอาทิตย์ (Osinga, 2008)

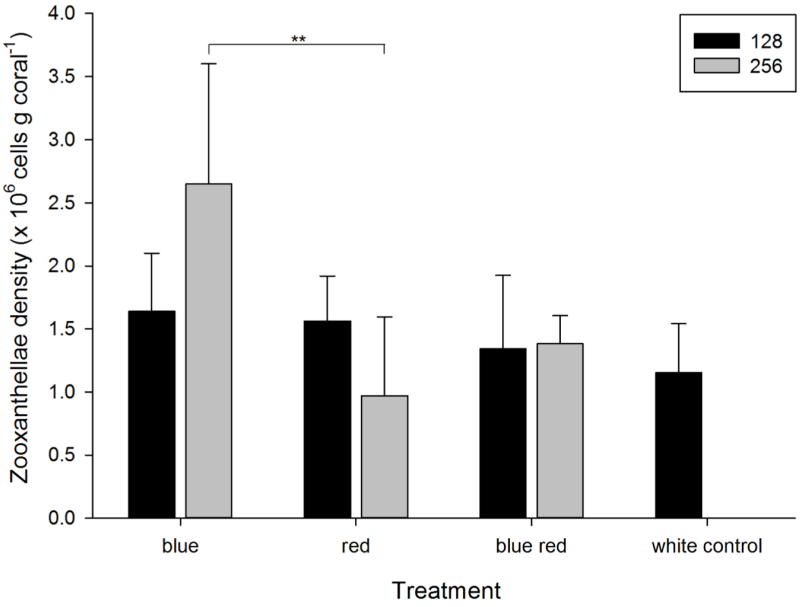


รูปที่ 2.6 แสงที่ส่องผ่านชั้นน้ำตามระดับความลึก ภาพด้านซ้ายแสดงถึงแสงที่ส่องผ่านชั้นน้ำในทะเลเปิด (open ocean) ภาพด้านขวาแสดงถึงแสงที่ส่องผ่านชั้นน้ำในบริเวณชายฝั่ง
ภาพโดย Kyle Carothers, NOAA-OE (Mascarenhas & Keck, 2018)

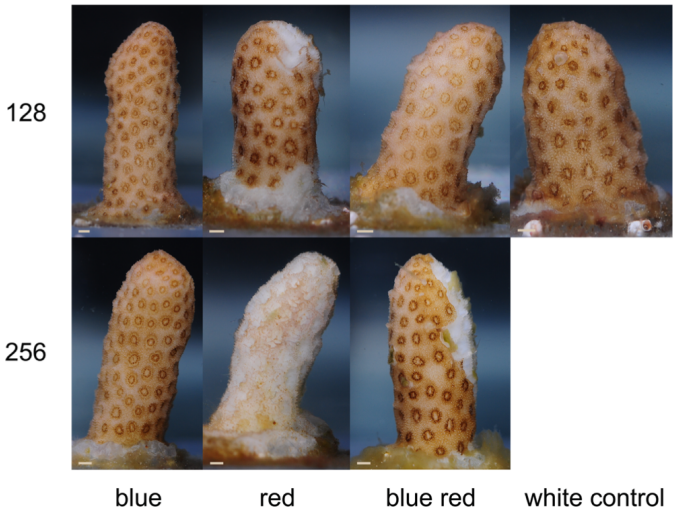
2.2.2 ผลของแสงต่อปะการังและสาหร่ายซูแซนเทลลี

Wijgerde *et al.* (2014) ได้ทำการศึกษาผลของแสงสีแดงต่อการปรับตัวทางสรีรวิทยาต่อแสง (photophysiology) ของปะการังเกล็ดคว่ำ *Stylophora pistillata* วัยตัวเต็มวัย เป็นระยะเวลา 6 อาทิตย์ พบว่าที่ความเข้มแสง 256 $\mu mol/m^2s$ แสงสีแดงมีแนวโน้มให้ผลเชิงลบต่ออัตราการอยู่รอดของปะการัง เนื่องจากพบว่ามีความหนาแน่นของซูแซนเทลลีต่ำกว่าปะการังที่เลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงิน และยังพบว่าเนื้อเยื่อปะการังบางส่วนเกิดการตายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้ผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Kinzie *et al.* (1984) ในปะการังดอกกระหล่ำ *Montipora verrucose* ในขณะเดียวกันการศึกษาของ Kinzie *et al.* (1984) ยังพบอีกว่าปริมาณรงควัตถุประเภทคลอโรฟิลล์ เอ ต่อเซลล์ในสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง

Pocillopora damicornis มีปริมาณน้อยในช่วงแสงสีแดง และมีปริมาณมากในแสงสีน้ำเงินและแสงสีขาว นอกจากนี้แล้วในการศึกษาของ Cohen *et al.*, 2016 พบว่าแสงสีน้ำเงินที่ความยาวคลื่น 455 นาโนเมตร สามารถเพิ่มการสะสมของแคลเซียมคาร์บอเนตในปะการัง *Porites lutea* และ *Acropora variabilis*



รูปที่ 2.7 แผนภูมิแสดงความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีภายใต้การทดลองในสภาวะแสงต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 อาทิตย์ (แสงสีน้ำเงิน แสงสีแดง แสงสีน้ำเงินและแดง และแสงสีขาว ที่ความเข้มแสง 128/256 μmol/m^2s) ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย + s.d. (N=4) **แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ P<0.010 (Wijgerde *et al.*, 2014)



รูปที่ 2.8 ภาพระยะใกล้ของปะการังที่เลี้ยงภายใต้สภาพแสงต่าง ๆ หลังจาก 6 อาทิตย์ (แสงสีน้ำเงิน แสงสีแดง แสงสีน้ำเงินและแดง และแสงสีขาว ที่ความเข้มแสง 128/256 μmol/m2s) (Wijgerde *et al.*, 2014)

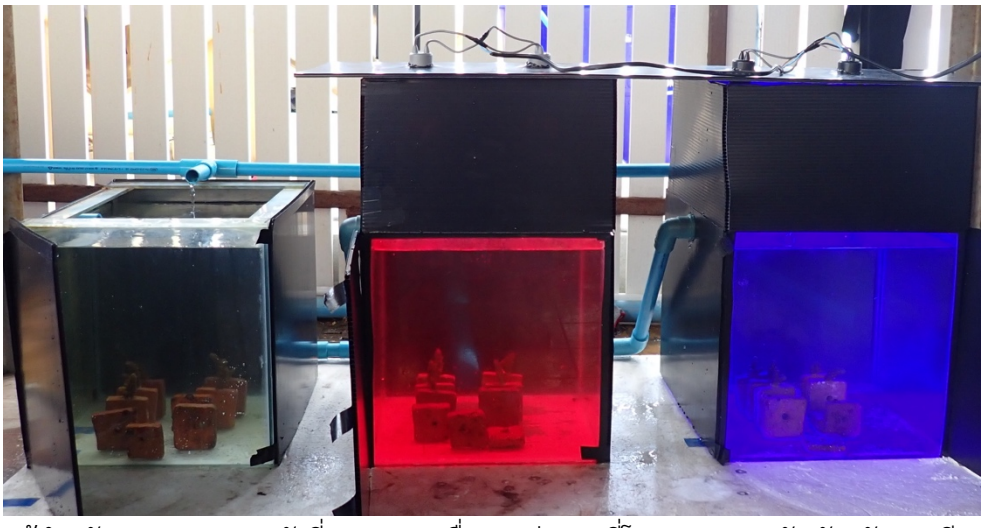
บทที่ 3 วิธีการศึกษา

3.1 การเก็บตัวอย่างปะการัง

ทำการดำน้ำเพื่อเก็บปะการังเขากวาง *Acropora humilis* วัยตัวเต็มวัย โดยใช้วิธีการแยกส่วน เลือกชิ้นที่มีขนาดประมาณ 5 เซนติเมตร ทั้งหมด 15 ชิ้น แล้วนำมาติดไว้บนฐานแผ่นกระเบื้อง ส่วนปะการังวัยอ่อนได้จากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในโรงเพาะปะการัง จำนวน 12 ชิ้น นำมาทำการปรับสภาพปะการัง (acclimation) ในตู้ที่จะใช้ทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยใช้แสงธรรมชาติ แล้วบันทึกขนาด สี และลักษณะของเนื้อเยื่อ

3.2 การทดลองเลี้ยงปะการังในสภาพแสงที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกัน

เลี้ยงปะการังในตู้ขนาด 30 x 30 x 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทั้งหมด 3 ตู้ โดยใช้น้ำทะเลระบบหมุนเวียน อุณหภูมิเฉลี่ย 29.7 องศาเซลเซียส ความเค็มเฉลี่ย 31 ppt ภายใต้เงื่อนไขที่ใช้แสงธรรมชาติเป็นชุดควบคุม แสงจากหลอดไฟสีแดง (630-700 นาโนเมตร) และหลอดไฟสีน้ำเงิน (450-490 นาโนเมตร) (Bohren & Clothiaux, 2006) ให้แสงเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยใช้ระบบการทดลองคล้ายกับของ Kuanui *et al*. (2020) ทำการทดลองจนครบ 8 สัปดาห์



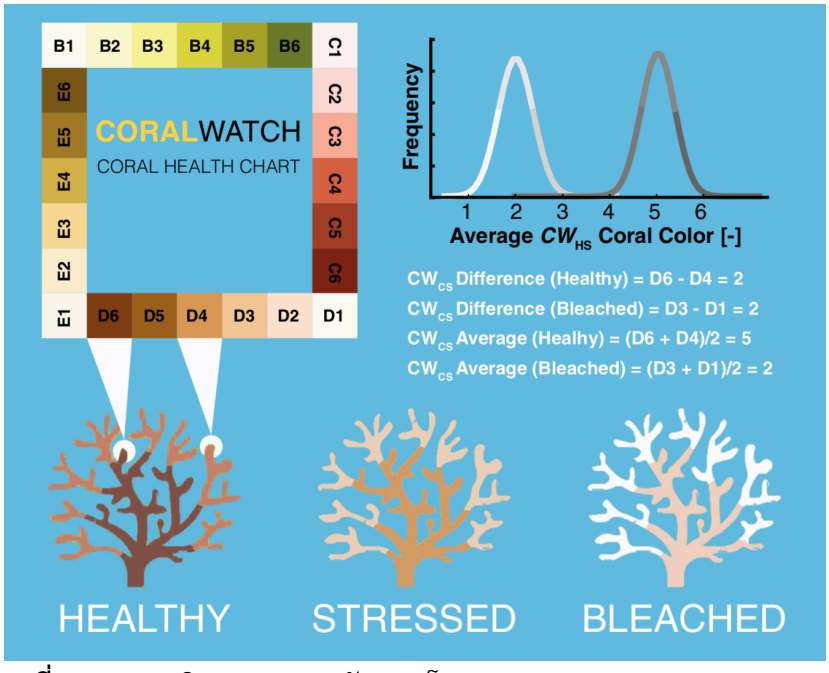
รูปที่ 3.1 ตู้สำหรับการเพาะปะการังที่ความยาวคลื่นแสงต่าง ๆ ที่โรงเพาะปะการัง จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย (โดยบริเวณเปิดด้านหน้าเพื่อการบันทึกภาพเท่านั้น)

3.3 ทำการศึกษาลักษณะและการเจริญเติบโตของปะการัง

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างปะการังเพื่อนำไปศึกษาการเจริญเติบโตในแง่ของ สีของเนื้อเยื่อปะการังและความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี ประกอบกับการศึกษาพันธุกรรมของสาหร่ายซูแซนเทลลีเพื่อบ่งชี้ชนิด

3.3.1 สีของปะการัง

ถ่ายรูปของปะการังก่อนการทดลอง หลังการทดลอง 2 อาทิตย์ และสิ้นสุดการทดลอง แล้วนำมาเปรียบเทียบสีของเนื้อเยื่อกับแผนภูมิสุขภาพปะการัง (Coral Health Chart) เพื่อประเมินระดับสุขภาพของปะการัง



รูปที่ 3.2 แผนภูมิสุขภาพปะการัง ภาพโดย NOAA (2019) (Knipp, 2020)

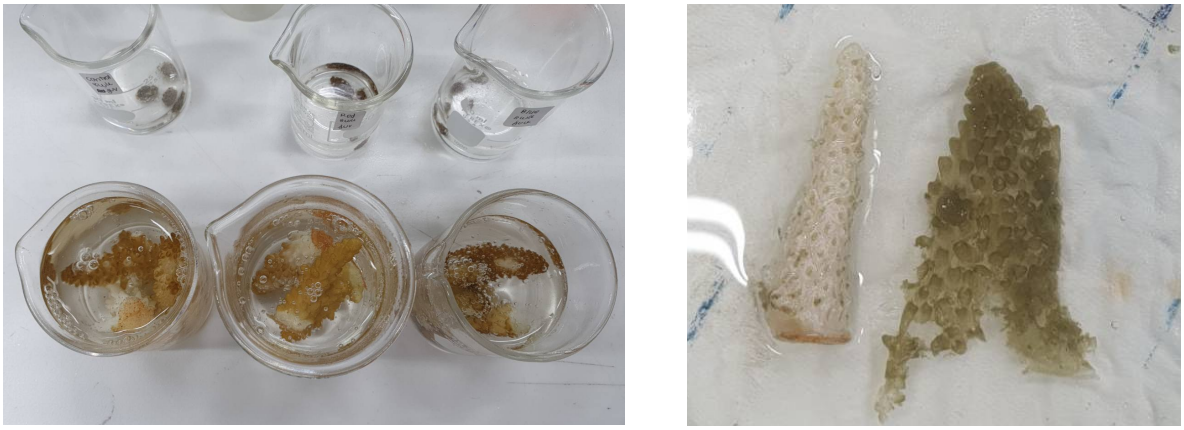
ตารางที่ 3.1 แสดงระดับสุขภาพของปะการัง (Udomsap, 2018)

ระดับสี	ระดับสุขภาพปะการัง	อัตราการรอด	อัตราการตาย
D1	แย่ที่สุด	16.67	83.33
D2	แย่มาก	33.33	66.67
D3	แย่	50	50
D4	ปานกลาง	66.67	33.33
D5	ดี	83.33	16.67
D6	ดีมาก	100	0

3.3.2 ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี

ทำการศึกษาความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีด้วยวิธีการย่อยโครงร่างหินปูน (decalcification) ตามหลักการของ McCowan *et al*. (2011) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ให้เก็บชิ้นส่วนปะการังแล้วแช่ไว้ใน 10% ฟอร์มาลินบัฟเฟอร์ เป็นระยะเวลา 4 วันขึ้นไป เพื่อรักษาสภาพของปะการังไว้ก่อนการวิเคราะห์ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี สำหรับปะการังตัวเต็มวัย นำชิ้นส่วนแช่ลงในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 5% เป็นระยะเวลาประมาณ 1-2 อาทิตย์ โดยทำการเปลี่ยนสารละลายทุก 3 วัน จนกว่าเนื้อเยื่อ

จะแยกออกจากโครงสร้างหินปูนของปะการัง ส่วนปะการังวัยอ่อนใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน โครงสร้างหินปูจะหายไป หลังจากนั้นให้ลอกเนื้อเยื่อของปะการังออกแล้วตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 25 ตารางมิลลิเมตร โดยใช้เวอร์เนียในการวัดขนาด ล้างเนื้อเยื่อปะการังที่ตัดแล้วด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% ทั้งหมด 3 ครั้ง และเก็บรักษาไว้ใน เอทิลแอลกอฮอล์ 70%



(ก) (ข)

รูปที่ 3.3 แสดงขั้นตอนในการศึกษาความหนาแน่นของซูแซนเทลลี
โดยรูป (ก) ปะการังในสารละลาย 5% ไฮโดรคลอริก และรูป (ข) เนื้อเยื่อปะการังที่ลอกออกมา

เมื่อต้องการนำมานับซูแซนเทลลี นำเอาเนื้อเยื่อปะการังที่ตัดแล้วมาทำการปั่นให้เป็นเนื้อเดียว โดยใช้เครื่อง Homogenizer (Nissei ACE homogenizer รุ่น AM-10) ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 70% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างมานับโดยหยดตัวอย่างลงบนสไลด์นับเม็ดเลือด (hemocytometer) ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน (Compound Light Microscope) และบันทึกจำนวนเซลล์ของสาหร่ายซูแซนเทลลี โดยความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี (เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร) สามารถคำนวณได้จาก

$$\frac{\text{จำนวนสาหร่ายซูแซนเทลลีที่นับได้ (เซลล์)}}{\text{จำนวนช่องใหญ่ที่นับ} \times \text{ ปริมาตรต่อ 1 ช่อง (ลูกบาศก์เซนติเมตร)}} \times \frac{\text{ปริมาตรตัวทำละลาย (ลูกบาศก์เซนติเมตร)}}{\text{พื้นที่เนื้อเยื่อปะการัง (ตารางเซนติเมตร)}}$$

ในขั้นตอนของการวิเคราะห์เชิงสถิติเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นของซูแซนเทลลีในปะการังที่เพาะเลี้ยงในความยาวคลื่นแสงต่าง ๆที่ช่วงอายุเดียวกัน ใช้หลักการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) เปรียบเทียบจำนวนสาหร่ายซูแซนเทลลีที่นับได้

3.3.3 การวิเคราะห์ชนิดของสาหร่ายซูแซนเทลลี

ตัดชิ้นส่วนของปะการังก่อนเริ่มการทดลอง หลังเริ่มการทดลองไป 2 สัปดาห์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บรักษาไว้ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 70% ในขั้นตอนการวิเคราะห์ชนิดของสาหร่ายซูแซนเทลลี

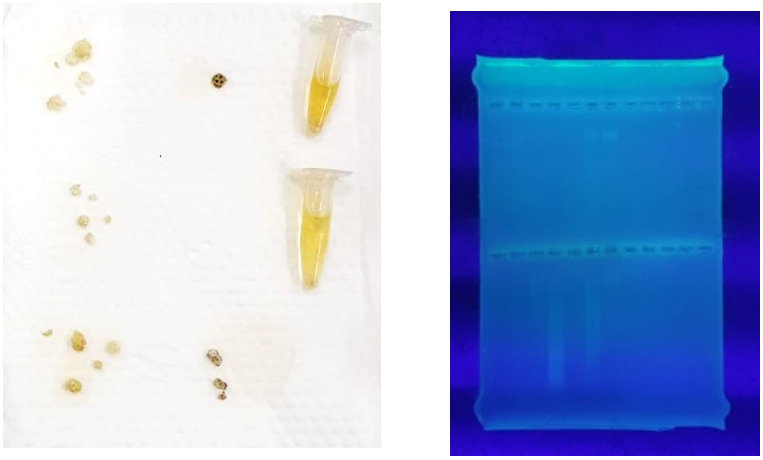
จะเริ่มจากการสกัดสารพันธุกรรม (DNA) ของสาหร่ายซูแซนเทลลี โดยใช้ชุดการทดลอง FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit ของบริษัท FAVORGEN โดยปฏิบัติตามขั้นตอนที่ระบุไว้บนคู่มือดังนี้

1. เตรียมสารพันธุกรรมของสาหร่ายซูแซนเทลลีได้โดยการนำเอาตัวอย่างปะการังมาผึ่งไว้ให้แห้งประมาณ 15-30 นาที ก่อนที่จะนำไปบดโดยใช้โกร่งบดยาบดให้ละเอียด โดยตัวอย่างแห้งควรมีน้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม นำตัวอย่างที่บดแล้วใส่ในหลอดไมโครเซนติฟิวก์ (Microcentrifuge tube or Eppendorf tube)
2. ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ FAPG1 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร และสารละลายไรโบนิวคลีเอส เอ เข้มข้น (RNase A 50mg/ml) ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างที่บดแล้ว รอประมาณ 2 นาที จากนั้นนำไปนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที ระหว่างการบ่มให้นำตัวอย่างออกมาเขย่าผสมสาร (vortex) ประมาณ 2-3 ครั้ง
3. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ FAPG 2 ปริมาตร 130 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปเขย่าผสมสาร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศา เป็นเวลา 5 นาที
4. เตรียมหลอดตัวกรอง (filter column) ใส่ลงไปในหลอดรองรับสาร (collection tube) จากนั้นนำสารผสมทั้งหมดที่เตรียมไว้จากขั้นต้นเทใส่หลอดตัวกรอง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) โดยความเร็ว 12,000 RPM เป็นเวลา 3 นาที
5. ย้ายสารละลายส่วนใสที่อยู่ในหลอดรองรับสารนำไปใส่ในหลอดไมโครเซนติฟิวก์หลอดใหม่
6. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ FAPG3 (ที่เติมเอทิลแอลกอฮอล์แล้ว) ปริมาตร 1.5 เท่าของสารละลายใสลงในหลอดทดลองในข้อที่ 5 และทำการผสมกันโดยใช้ปิเปตต์
7. เตรียมหลอด FAPG (FAPG column) ลงในหลอดรองรับสารชิ้นใหม่ จากนั้นทำการถ่ายสารผสมจากข้อที่ 6 ลงไป ปริมาตรไม่เกิน 750 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 RPM เป็นระยะเวลา 1 นาที เมื่อเสร็จสิ้นการปั่นเหวี่ยง ให้เทสารละลายที่ไหลผ่านลงมาอยู่ในหลอดรองรับสารทิ้ง แล้วนำหลอด FAPG ใส่กลับไปใหม่
8. ทำตามขั้นตอนที่ 7 ซ้ำอีกครั้ง
9. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ W1 (ที่เติมเอทิลแอลกอฮอล์แล้ว) ปริมาตร 400 ไมโครลิตรลงในหลอด FAPG แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 RPM เป็นระยะเวลา 30 วินาที เมื่อเสร็จสิ้นการปั่นเหวี่ยง ให้เทสารละลายที่ไหลผ่านลงมาอยู่ในหลอดรองรับสารทิ้ง แล้วนำหลอด FAPG ใส่กลับไปใหม่
10. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ W2 (ที่เติมเอทิลแอลกอฮอล์แล้ว) ปริมาตร 650 ไมโครลิตรลงในหลอด FAPG แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 RPM เป็นระยะเวลา 30 วินาที เมื่อเสร็จสิ้นการปั่นเหวี่ยง ให้เทสารละลายที่ไหลผ่านลงมาอยู่ในหลอดรองรับสารทิ้ง แล้วนำหลอด FAPG ใส่กลับไปใหม่
11. ทำตามขั้นตอนที่ 10 ซ้ำอีกครั้ง
12. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 RPM เป็นระยะเวลา 3 นาที เพื่อให้หลอด FAPG แห้งสนิท

13. นำหลอด FAPG ไปใส่ในหลอดอีลูชั่น (elution tube) แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์อีลูชั่น (elution buffer) ที่อุ่นแล้ว ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงไปตรงกลางหลอด FAPG จากนั้นรอประมาณ 1 นาที

14. นำหลอดทดลงในข้อที่ 13 ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 RPM เป็นระยะเวลา 2 นาที

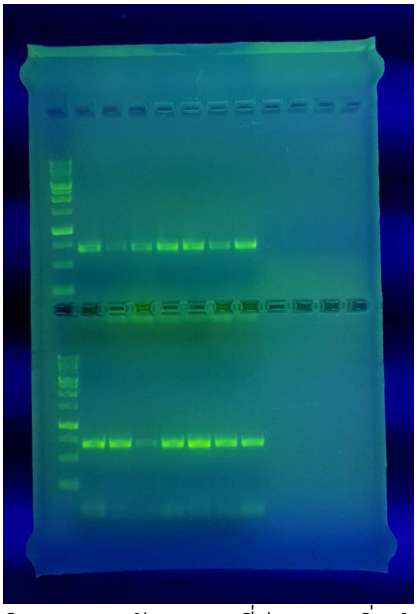
เมื่อเสร็จสิ้นขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมแล้ว นำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจสอบว่าสามารถสกัดออกมาได้สำเร็จหรือไม่ โดยการใช้เทคนิคเจลอิเลคโตรโฟริซีส (gel electrophoresis) แล้วนำเจลที่ได้ไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet or UV) หากแถบสีไม่ขึ้น อาจแสดงว่าการสกัดสารพันธุกรรมไม่สำเร็จเนื่องจากมีการปนเปื้อนของเอทิลแอลกอฮอล์



(ก) (ข)

รูปที่ 3.4 รูปแสดงขั้นตอนบางส่วนของการสกัดสารพันธุกรรม (ก) ตัวอย่างปะการังที่เก็บรักษาไว้ใน 70% เอทิลแอลกอฮอลล์ นำมาผึ่งให้แห้ง และ (ข) เจลอิเลคโตรโฟริซิสที่ส่องภายใต้แสง UV

ขั้นตอนต่อไปคือการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ตามวิธีของ van Oppen *et al*. (2001) โดยใช้ไพรเมอร์สองชุดได้แก่ SymITSFP (5’-CTCAGCTCTGGACG TTGYGTTGG-3’) และ SymITSb (5’-GCGGGTTCATTGTCTGACT-3’) ในเทคนิค PCR แต่ละรอบจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ การแยกสาดีเอ็นเอ (denaturation) การลงเกาะของไพรเมอร์ (annealing) และการต่อสายดีเอ็นเอ (extension) โดยเริ่มจากการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที 1 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิ 95 องศา 30 วินาที 30 รอบ ขั้นตอนต่อไปใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 1 นาที ขั้นตอนสุดท้ายใช้อุณหภูมิที่ 72 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 10 นาที เมื่อทำตามขั้นตอนเสร็จสิ้นแล้ว ให้นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ ไปตรวจสอบปริมาณและคุณภาพด้วยวิธีเจลอิเลคโตรโฟริซีส



รูปที่ 3.5 เจลอิเลคโตรโฟริซิสของสารพันธุกรรมที่ผ่านการเพิ่มจำนวนที่ส่องภายใต้แสง UV

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการทำ PCR จะต้องนำมาผ่านการแยกสารพันธุกรรมให้บริสุทธิ์ (DNA Purification) ก่อน โดยใช้ชุด FavorPrep™ GEL/PCR Purification Kit ของบริษัท FAVORGEN โดยปฏิบัติตามขั้นตอนที่ระบุไว้ในคู่มือได้แก่

1. นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR ปริมาตรสูงสุด 100 ไมโครลิตรบรรจุลงในหลอดไมโครเซนติฟิวก์แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ FADF จากนั้นนำไปเขย่าผสมให้เข้ากัน
2. เตรียมหลอด FADF ใส่ไว้ในหลอดรองรับสาร
3. ถ่ายสารผสมตัวอย่างในข้อที่ 1 ลงไปในหลอดที่เตรียมไว้ หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 9900 RPM เป็นเวลา 30 วินาที ทิ้งสารละลายที่ไหลผ่านลงมาที่หลอดรองรับสารทิ้ง
4. ใส่สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับชะล้างที่เติมเอทิลแอลกอฮอล์แล้วง (Wash buffer) ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ลงในหลอด FADF นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 9900 RPM เป็นระยะเวลา 30 วินาที ทิ้งสารละลายที่ไหลผ่านลงมาที่หลอดรองรับสารทิ้ง
5. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 RPM เป็นระยะเวลา 3 นาที ทิ้งสารละลายที่ไหลผ่านลงมาที่หลอดรองรับสารทิ้ง
6. นำหลอด FADF ที่แห้งแล้ว ใส่ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวก์ชิ้นใหม่
7. ใส่สารละลายบัฟเฟอร์อีลูชั่น ปริมารสูงสุด 40 ไมโครลิตร ที่ตรงกลางของหลอด FADF จากนั้นทิ้งเอาไว้ประมาณ 1 นาที
8. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 RPM เป็นระยะเวลา 1 นาที สารละลายที่อยู่ในหลอดไมโครเซนติฟิวก์คือสารพันธุกรรมบริสุทธิ์

เมื่อเสร็จสิ้นขั้นตอนการเพิ่มความบริสุทธิ์ของสารพันธุกรรมแล้ว นำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจสอบว่าบริสุทธิ์หรือไม่ โดยการใช้เทคนิคเจลอิเลคโตรโฟริซีส (gel electrophoresis) แล้วนำเจลที่ได้ไปส่องภายใต้แสง UV ถ้าหากแถบขนาดของดีเอ็นเอชัดที่หลากหลายขนาด อาจแสดงว่าการสารพันธุกรรมมีการปนเปื้อน

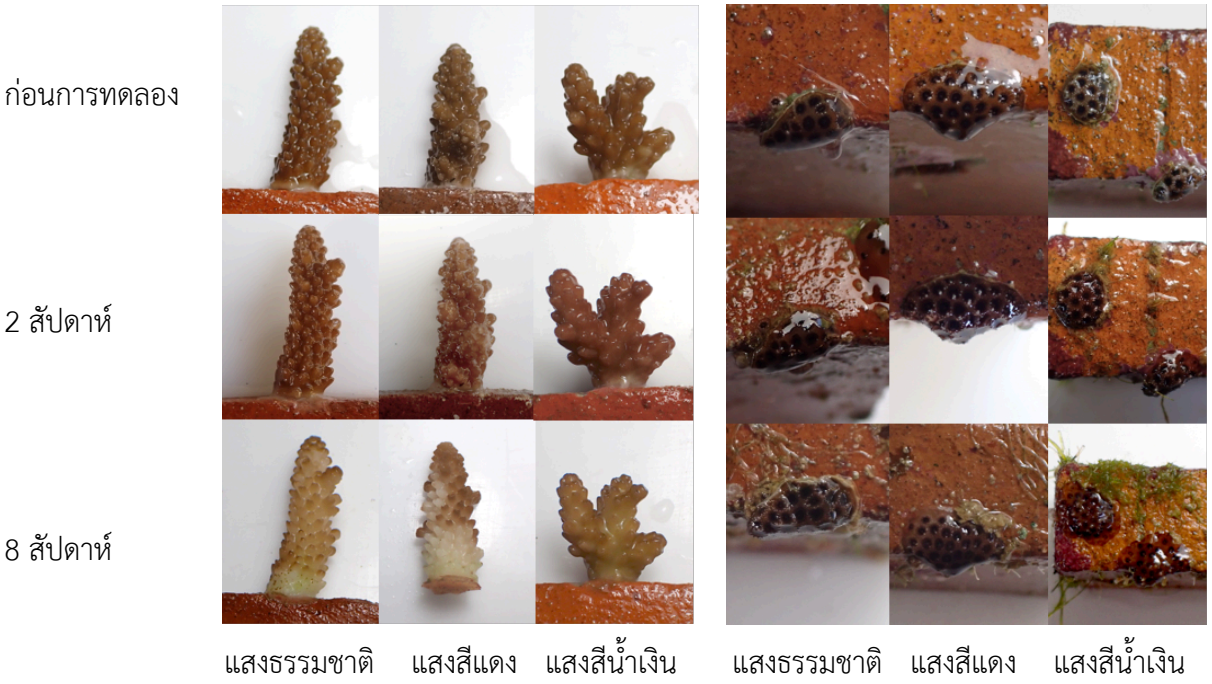
เมื่อได้ลำดับเบสของตัวอย่างมาแล้ว สามารถนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต (phylogenetics analysis) ผ่านโปรแกรม MEGAX และสร้างแผนภูมิต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ (phylogenetic tree)

บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล

4.1 สุขภาพของปะการัง

สีของปะการังตัวโตเต็มวัยเมื่อเริ่มต้นการทดลองของทุกสภาพแสงมีระดับสีเฉลี่ยอยู่ที่ D5 (สุขภาพดี) หลังจากทำการทดลองไปแล้วเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ สีของปะการังยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์พบว่า สีของปะการังที่เพาะในสภาพแสงธรรมชาติมีระดับความเข้มเฉลี่ยที่ D3 (สุขภาพแย่) ปะการังที่เลี้ยงในแสงสีแดงมีระดับความเข้มเฉลี่ยที่ D3 (สุขภาพแย่) และพบว่าในบางตัวอย่างมีการฟอกขาวของเนื้อเยื่อปะการังบางส่วน ปะการังที่เลี้ยงในแสงสีน้ำเงินมีระดับความเข้มเฉลี่ยที่ D4 (สุขภาพปานกลาง)

สีของปะการังวัยอ่อนเมื่อเริ่มต้นการทดลองของทุกสภาพแสงมีระดับสีเฉลี่ยอยู่ที่ D6 (สุขภาพดีมาก) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปะการังวัยอ่อนในทุกสภาพแสงไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับสีตลอดการทดลอง

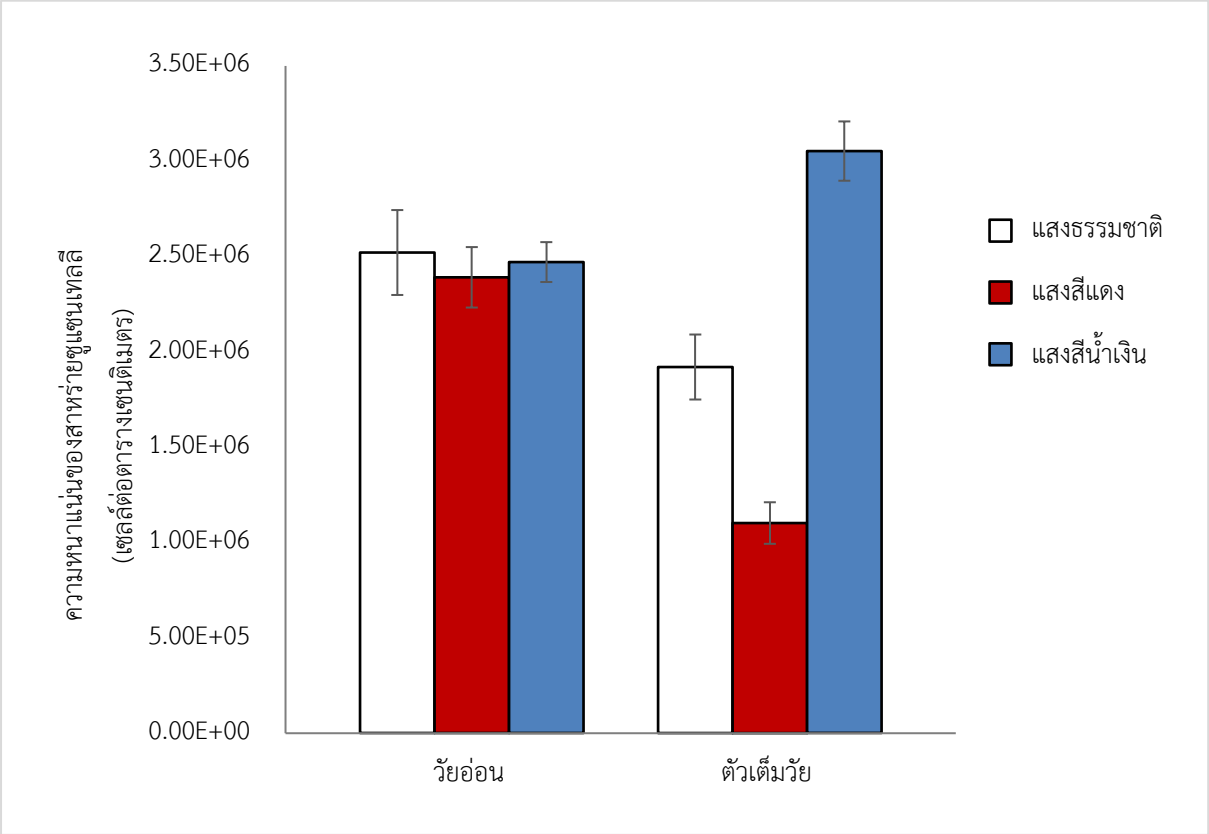


รูปที่ 4.1 ภาพปะการังก่อนการทดลอง 2 ระหว่างการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ที่เลี้ยงภายในสภาพแสงต่าง ๆ (แสงธรรมชาติ แสงสีแดง และแสงสีน้ำเงิน)

4.2 ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลี

ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการังระยะตัวอ่อนที่เลี้ยงภายใต้สภาพแสงต่าง ๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์พบว่าไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยปะการังที่เพาะในแสงธรรมชาติมีความหนาแน่นเฉลี่ย $(2.52 \pm 0.223) \times 10^6$ เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ปะการังที่เพาะในแสงสีแดงมีความหนาแน่นเฉลี่ย $(2.39 \pm 0.159) \times 10^6$ เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ปะการังที่เพาะในแสงสีน้ำเงินมีความหนาแน่นเฉลี่ย $(2.47 \pm 0.105) \times 10^6$ เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ในปะการังวัยตัว

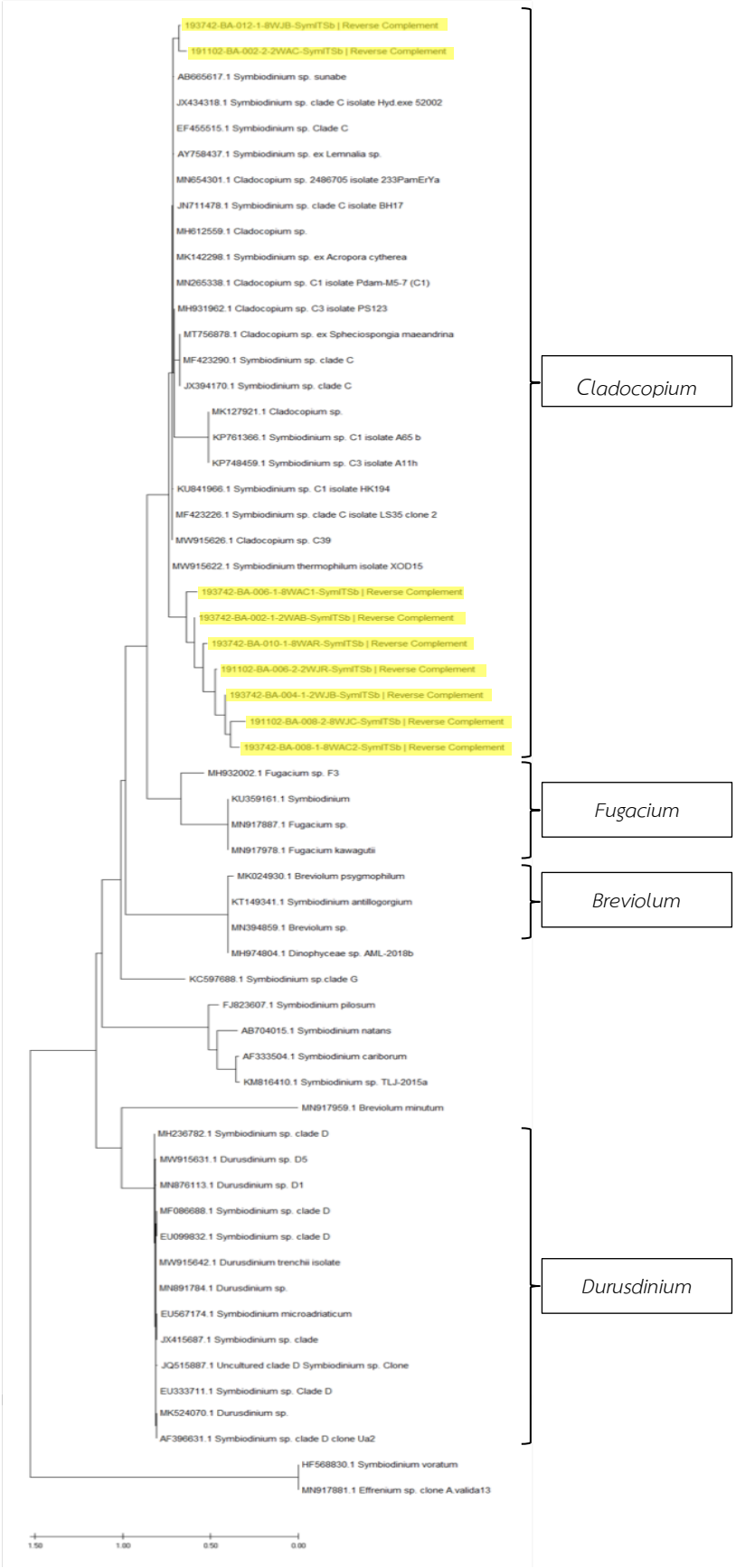
เต็มวัยที่เลี้ยงภายใต้ความยาวแสงที่ต่างกัน พบว่ามีความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยปะการังที่เลี้ยงภายใต้แสงสีน้ำเงินมีความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีสูงที่สุด เฉลี่ย (3.05 ± 0.156) x 10^6 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร รองลงมาคือแสงสีธรรมชาติมีความหนาแน่นเฉลี่ย (1.92 ± 0.170) x 10^6 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร และน้อยที่สุดคือแสงสีแดงมีความหนาแน่นเฉลี่ย (1.10 ± 0.170) x 10^6 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร



รูปที่ 4.2 แผนภูมิแสดงความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *A. humilis* หลังการทดลอง 8 สัปดาห์ โดยค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± SE

4.3 ชนิดของสาหร่ายซูแซนเทลลี

จากการวิเคราะห์ความเกี่ยวเนื่องของสายวิวัฒนาการด้วยลำดับสารพันธุกรรมของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *A. humilis* วัยอ่อนและตัวเต็มวัยที่นำมาทำการทดลองพบว่าสาหร่ายซูแซนเทลลีที่พบจัดอยู่ในกลุ่มของ *Cladocopium* ดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แผนภูมิต้นไม้แสดงสายวิวัฒนาการของสาหร่ายซูแซนเทลลี
ข้อความเน้นสีเหลืองแสดงถึงตัวอย่างที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์พันธุกรรมในการทดลอง

บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

การศึกษาผลความแตกต่างของความยาวคลื่นแสงช่วงสีแดงและสีน้ำเงินต่อความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *A. humilis* ชี้ให้เห็นว่าในระยะตัวเต็มวัย ความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีในแต่ละช่วงความยาวคลื่นแสงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีในชุดการทดลองแสงสีน้ำเงินมีค่าสูงสุด รองลงมาคือชุดควบคุม และชุดการทดลองแสงสีแดงตามลำดับ สอดคล้องกับระดับความเข้มของสีเนื้อเยื่อปะการัง ซึ่งปะการังในชุดการทดลองแสงสีน้ำเงินมีระดับความเข้มสีของเนื้อเยื่อที่สูงกว่าชุดควบคุม และแสงสีแดง อีกทั้งยังพบการตายของเนื้อเยื่อบางส่วนในชุดการทดลองแสงสีแดง ขณะที่ปะการังวัยอ่อนไม่พบความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนเทลลีและระดับความเข้มสีของเนื้อเยื่อในแต่ละชุดการทดลอง ในส่วนของการตรวจวิเคราะห์สกุลของสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *A. humilis* ทั้งในวัยอ่อนและตัวเต็มวัยพบว่าอยู่ในสกุล *Cladocopium* ทั้งหมด ซึ่งเป็นสกุลที่พบกระจายได้ทั่วไปในเขตมหาสมุทรอินโด-แปซิฟิก (Leveque *et al*., 2019)

จึงกล่าวได้ว่าผลของความยาวคลื่นแสงช่วงสีน้ำเงินมีแนวโน้มทำให้ปะการัง *A. humilis* ตัวเต็มวัยมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าแสงสีแดง แต่ไม่ได้มีผลที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในปะการังระยะวัยอ่อน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการตอบสนองในแง่ขององค์ประกอบของรงควัตถุในสาหร่ายซูแซนเทลลีเนื่องจากความแตกต่างของชนิดปะการังอาจให้ผลที่แตกต่างกัน

2. หากสามารถทำการทดลองในระยะเวลาที่มากพอ อาจสามารถศึกษาผลของการเจริญเติบโตในแง่ของขนาดปะการัง

3. สามารถศึกษาผลของความเข้มแสงที่ระดับต่าง ๆ กับความยาวคลื่นแสงต่อการตอบสนองของปะการังควบคู่กันไปได้

เอกสารอ้างอิง

Bohren, C. F., & Clothiaux, E. E. (2006). *Fundamentals of atmospheric radiation: an introduction with 400 problems*. John Wiley & Sons.

Chankong, A., & Manthachitra, V. (2006). Species, distribution and community structure of the scleractinian corals genus Acropora in the gulf of Thailand.

Godinot, C., Gaysinski, M., Thomas, O. P., Ferrier-Pagès, C., & Grover, R. (2016). On the use of 31 P NMR for the quantification of hydrosoluble phosphorus-containing compounds in coral host tissues and cultured zooxanthellae. *Scientific reports*, *6*(1), 1-11.

Hidaka, M. (2016). Life history and stress response of scleractinian corals. *Coral Reef Science*, 1-24.

Kinzie, R. A., Jokiel, P. L., & York, R. (1984). Effects of light of altered spectral composition on coral zooxanthellae associations and on zooxanthellae in vitro. *Marine Biology*, *78*(3), 239-248.

Knipp, A. L., Pettijohn, J. C., Jadot, C., & Hertler, H. (2020). Contrasting color loss and restoration in survivors of the 2014–2017 coral bleaching event in the Turks and Caicos Islands. *SN Applied Sciences*, *2*(3), 1-11.

Kojis, B. L. (1986). Sexual reproduction in Acropora (Isopora) species (Coelenterata: Scleractinia). *Marine Biology*, *91*(3), 291-309.

Kuanui, P., Chavanich, S., Viyakarn, V., Omori, M., Fujita, T., & Lin, C. (2020). Effect of light intensity on survival and photosynthetic efficiency of cultured corals of different ages. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *235*, 106515.

LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W., Jeong, H. J., Reimer, J. D., Voolstra, C. R., & Santos, S. R. (2018). Systematic revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. *Current Biology*, *28*(16), 2570-2580.

Leveque, S., Afiq-Rosli, L., Ip, Y. C. A., Jain, S. S., & Huang, D. (2019). Searching for phylogenetic patterns of Symbiodiniaceae community structure among Indo-Pacific Merulinidae corals. *PeerJ*, *7*, e7669.

Mascarenhas, V., & Keck, T. (2018). Marine Optics and Ocean Color Remote Sensing. *YOUMARES 8–Oceans Across Boundaries: Learning from each other*, 41.

McCowan, D. M., PRATCHETT, M. S., PALEY, A. S., Seeley, M., & BAIRD, A. H. (2011). A comparison of two methods of obtaining densities of zooxanthellae in Acropora millepora. *Galaxea, Journal of Coral Reef Studies*, *13*(1), 29-34.

Muscatine, L. (1990). The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. *Coral reefs*, *25*(1.29), 75-87.

Nielsen, D. A., Petrou, K., & Gates, R. D. (2018). Coral bleaching from a single cell perspective. *The ISME Journal*, *12*(6), 1558-1567.

Osinga, R., Janssen, M., & Janse, M. (2008). The role of light in coral physiology and its implications for coral husbandry. *Advances in coral husbandry in public aquariums*, 173-183.

Sammarco, P. W. (1982). Polyp bail-out: an escape response to environmental stress and a new means of reproduction in corals. *Marine ecology progress series. Oldendorf*, *10*(1), 57-65.

van der Meij, S. E., & Visser, R. R. (2011). The Acropora humilis group (Scleractinia) of the Snellius expedition (1929-1930). *Raffles Bulletin of Zoology*, *59*(1), 9-17.

Stewart, R. H. (2008). *Introduction to physical oceanography*. Robert H. Stewart.

Wijgerde, T., van Melis, A., Silva, C. I., Leal, M. C., Vogels, L., Mutter, C., & Osinga, R. (2014). Red light represses the photophysiology of the scleractinian coral Stylophora pistillata. *PLoS One*, *9*(3), e92781.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ตารางแสดงจำนวนสาหร่ายซูแซนเทลลีที่นับได้ และผลความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนทีของปะการังวัยอ่อน เมื่อทำการทดลองครบ 8 สัปดาห์

	sample no.	1st count	2nd count	average	zooxan density	average zooxan density	sd	se
Control	1	74	59.5	66.75	2.97E+06			
		39.5	46	42.75	1.90E+06			
		54	59	56.5	2.51E+06			
	2	86	61	73.5	3.27E+06			
		44	43	43.5	1.93E+06			
		65	50.5	57.75	2.57E+06	2.52E+06	5.45E+05	2.23E+05
Red	1	63.5	57	60.25	2.68E+06			
		62.5	71.5	67	2.98E+06			
		45	42.5	43.75	1.94E+06			
	2	43	60.5	51.75	2.30E+06			
		59.5	47.5	53.5	2.38E+06			
		43	49	46	2.04E+06	2.39E+06	3.88E+05	1.59E+05
Blue	1	66	53.5	59.75	2.66E+06			
		42	48.5	45.25	2.01E+06			
		58	52.5	55.25	2.46E+06			
	2	46	43	44.5	1.98E+06			
		51.5	53	52.25	2.32E+06			
		63.5	61.5	62.5	2.78E+06			
	3	67.5	60.5	64	2.84E+06			
		52.5	59	55.75	2.48E+06			
		61	59.5	60.25	2.68E+06	2.47E+06	3.14E+05	1.05E+05

*1st and 2nd count are from different drops of sample

**1st and 2nd count are from mean of upper and lower cells on hemacytometer

ตารางที่ 2 ตารางแสดงจำนวนสาหร่ายซูแซนเทลลีที่นับได้ และผลความหนาแน่นของสาหร่ายซูแซนทีของปะการังวัยตัวเต็มวัย เมื่อทำการทดลองครบ 8 สัปดาห์

	sample no.	1st count	2nd count	average	zooxan density	average zooxan density	sd	se
Control	1	35	58.5	46.75	2.08E+06			
		30.5	40	35.25	1.57E+06			
		32	53	42.5	1.89E+06			
	2	39	47	43	1.91E+06			
		39.5	59.5	49.5	2.20E+06			
		51.5	23.5	37.5	1.67E+06			
	3	38	54	46	2.04E+06			
		34.5	43	38.75	1.72E+06			
		46	53	49.5	2.20E+06	1.92E+06	2.31E+05	7.70E+04
Red	1	15	30	22.5	1.00E+06			
		54	33	43.5	1.93E+06			
		31	20.5	25.75	1.14E+06			
	2	33.5	37	35.25	1.57E+06			
		16.5	31	23.75	1.06E+06			
		21.5	13	17.25	7.67E+05			
	3	29	18.5	23.75	1.06E+06			
		10.5	10.5	10.5	4.67E+05			
		23.5	12.5	18	8.00E+05			
	4	31	17.5	24.25	1.08E+06			
		16	32	24	1.07E+06			
		38.5	19.5	29	1.29E+06	1.10E+06	3.78E+05	1.09E+05
Blue	1	54.5	105	79.75	3.54E+06			
		41	74.5	57.75	2.57E+06			
		52	90.5	71.25	3.17E+06			
	2	80	89	84.5	3.76E+06			
		36	49.5	42.75	1.90E+06			
		110.5	58.5	84.5	3.76E+06			
	3	61.5	69	65.25	2.90E+06			
		57.5	73.5	65.5	2.91E+06			
		66	78	72	3.20E+06			
		66	48.5	57.25	2.54E+06			
		72.5	66	69.25	3.08E+06			
		82.5	66	74.25	3.30E+06	3.05E+06	5.39E+05	1.56E+05

*1st and 2nd count are from different drops of sample

**1st and 2nd count are from mean of upper and lower cells on hemacytometer

ตารางที่ 3 ตารางแสดงผลวิเคราะห์ทางสถิติ one-way analysis of variance (ANOVA) ของจำนวนสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง A. humilis วัยอ่อนภายใต้ความยาวคลื่นแสงสีต่าง ๆ (แสงธรรมชาติ แสงสีแดง และแสงสีน้ำเงิน) เมื่อทำการทดลองครบ 8 สัปดาห์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
Column 1	12	681.5	56.7916667	187.566288
Column 2	12	644.5	53.7083333	97.4299242
Column 3	18	999	55.5	56.8235294

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	57.6845238	2	28.8422619	0.27428911	0.76156639	3.23809614
Within Groups	4100.95833	39	105.152778			
Total	4158.64286	41				

ตารางที่ 4 ตารางแสดงผลวิเคราะห์ทางสถิติ one-way analysis of variance (ANOVA) ของจำนวนสาหร่ายซูแซนเทลลีในปะการัง *A. humilis* วัยตัวเต็มวัยภายใต้ความยาวคลื่นแสงสีต่าง ๆ (แสงธรรมชาติ แสงสีแดง และแสงสีน้ำเงิน) เมื่อทำการทดลองครบ 8 สัปดาห์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

SUMMARY

Groups	*Count*	*Sum*	*Average*	*Variance*
Control	18	777.5	43.1944444	105.062908
Red	24	595	24.7916667	114.693841
Blue	24	1648	68.6666667	340.536232

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	23263.7487	2	11631.8744	59.7900208	2.78E-15	3.14280852
Within Groups	12256.3611	63	194.545414			
Total	35520.1098	65				