รายงานผลการดำเนินงาน
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

# การแยกและเลี้ยง zooxanthellae สายพันธุ์ทนร้อนจากปะการังและหอยสองฝา

# Isolation and culture of thermal tolerance stain of zooxanthellae from corals and marine bivalve

ในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

คณะผู้ดำเนินงาน

รศ.ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ
รศ.ดร.วรณพ วิยกาญจน์
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์

**กิตติกรรมประกาศ**

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2555 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

**บทคัดย่อ**

ปรากฏการณ์ปะการังฟองขาว หรือ coral bleaching เป็นสาเหตุของความเสื่อมโทรมอย่างมากต่อแนวปะการังทั้งฝั่งอ่าวไทย และฝั่งอันดามัน ปัญหาดังกล่าวเกิดจากการที่สาหร่าย *Symbiodinium* sp. (zooxanthellae) ออกจากตัวปะการัง เมื่ออุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำทะเลสูงกว่าปกติ 1 – 2 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวดังกล่าว เป็นสาเหตุให้ปะการังตายและเกิดความเสื่อมโทรมในระบบนิเวศปะการัง การฟื้นฟูปะการังนอกจากการปลูกปะการังเพื่อเป็นการทดแทนแล้ว ยังมีแนวคิดที่จะนำสาหร่าย zooxanthellae ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการกลับคืนเข้าสู่ตัวปะการังที่เกิดการฟอกขาว รวมถึงการใช้ zooxanthellae เพื่อการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนปะการังที่ได้จากการผสมพันธุ์แบบอาศัยเพศในโรงเพาะพันธุ์ เนื่องจาก zooxanthellae จะเข้าไปอยู่ในปะการังได้ตั้งแต่ระยะที่ปะการังเป็นตัวอ่อน โดยทำหน้าที่สร้างอาหารและสร้างโครงสร้างหินปูนให้กับตัวอ่อนซึ่งมีความสำคัญต่อความสำเร็จในการลงเกาะและเจริญเป็นปะการังต่อไป ดังนั้นถ้าทราบข้อมูลปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง zooxanthellae ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการฟื้นฟูปะการังให้กลับสู่สภาพปกติโดยเร็วภายหลังจากการเกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว และเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนปะการัง สำหรับการศึกษานี้ได้ทำการแยก zooxanthellae โดยใช้แรงดันน้ำฉีดที่ตัวปะการังและดอกไม้ทะเลเพื่อให้สาหร่ายหลุดออกมา หลังจากนั้นนำสาหร่ายที่แยกได้มาทดลองเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ เพื่อหาความเหมาะสมต่อชนิดอาหาร เมื่อได้สูตรอาหารที่มีความเหมาะสมแล้วจึงนำมาเลี้ยงในสภาวะที่เป็นกรด – ด่าง ทั้งสิ้น 5 ระดับ คือ pH 6, pH 6.5, pH 7, pH 7.5 และ pH 8 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง zooxanthellae คือ อาหารสำเร็จรูป Daigo ที่มีค่า pH 6.5,7 และ 8 zooxanthellae ที่แยกจากปะการังจะมีสภาพเซลล์ปกติแต่ไม่พบการเพิ่มจำนวน ส่วน zooxanthellae ที่แยกจากดอกไม้ทะเลสามารถเติบโตได้ในทุกสูตรอาหาร

**คำสำคัญ** การแยกและเลี้ยง zooxanthellae ทนร้อน ปะการัง

**Abstract**

Recently, the severe damage of coral reef areas in Andaman Sea and Gulf of Thailand has been suffered by coral bleaching. This phenomenon was resulted from the released of symbiotic *Symbiodinium* sp. (zooxanthellae) from the coral host and other invertebrates when the average temperature of seawater increased to about 1 – 2° C higher than the average normal temperature. Once bleaching begins, the symbiotic zooxanthellae will be expelled from the host and tends to continue even without continuing stress, which leads to a lighter or completely white appearance and then the coral has no longer to survive. If the coral colony survives during the stress period, zooxanthellae in coral tissue often require weeks to months to return to normal density. To restore/conserve the coral reef areas, many research projects have concerned on the coral propagation via sexual process and asexual process by snipping fragments of donor colonies, mounting it on small disks, and submerging it under water to start new colonies. The research on zooxanthellae culture has been carried out as for the rehabilitation of zooxanthellae cells into those breached coral and also into coral eggs and larvae of coral during the sexual process which is the trigger for growth and survival of the newborn coral. In this study, zooxanthellae from coral and sea anemone were isolated and maintained in 4 different of culture medium. The best culture medium for growth of zooxanthellae will be selected to conduct the experiment with five levels of pH. The results revealed that Daigo medium at pH 6.5, 7 and pH 8 were optimal to maintain those zooxanthellae cells from coral but no cell division was observed while zooxanthellae from sea anemone have high growth rate in all culture medium.

Keyword: zooxanthellae, Symbiodinium sp., isolated, culture

## สารบัญเรื่อง

**ชื่อเรื่อง** การแยกและเลี้ยง zooxanthellae สายพันธุ์ทนร้อนจากปะการังและหอยสองฝา
Isolation and culture of thermal tolerance stain of zooxanthellae from corals and marine bivalve


| | |
|---|---|
| กิตติกรรมประกาศ | i |
| บทคัดย่อภาษาไทย | ii |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | iii |
| สารบัญเรื่อง | iv |
| สารบัญรูป | v |
| บทนำ | 1 |
| งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 2 |
| วัตถุประสงค์ | 4 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 4 |
| วิธีดำเนินการศึกษา | 4 |
| ผลการศึกษา | 8 |
| สรุปและวิจารณ์ผล | 12 |
| เอกสารอ้างอิง | 14 |
| ภาคผนวก | 16 |


เลขหมู่
เลขทะเบียน 015852
วัน, เดือน, ปี 15 พ.ค. 56

# สารบัญรูป

รูปที่ 1 การดำรงชีพแบบพึ่งพาของ zooxanthellae ในเนื้อเยื่อปะการัง 2
รูปที่ 2 zooxanthellae ที่อยู่ภายในไข่ของปะการัง(Hirose et al.,2000) 3
รูปที่ 3 สถานีเก็บตัวอย่างบริเวณเกาะปลาหมึกซึ่งอยู่บริเวณทิศใต้ของเกาะแสมสาร 4
รูปที่ 4 ปะการัง *Pocillopora damicornis* ใช้ในการแยก zooxanthellae 5
รูปที่ 5 ดอกไม้ทะเลที่ Anthopleura sp.ใช้ในการแยก zooxanthellae 5
รูปที่ 6 gymnodinoid cell ของ zooxanthellae ที่ได้จากปะการัง 8
รูปที่ 7 coccoid cell ของ zooxanthellae ที่ได้จากปะการัง 9
รูปที่ 8 coccoid cell ของ zooxanthellae ที่แยกจากดอกไม้ทะเล *Anthopleura* sp. 9
รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ zooxanthellae กับระยะเวลาที่ทำการเลี้ยง 10
รูปที่ 10 อัตราส่วนร้อยละ ระหว่าง coccoid cell ต่อ gymnodiniod cell ใน 24 ชั่วโมง 10
รูปที่ 11 แสดงวงชีวิตของ zooxanthellae (Wang et al.,2008) 11

**ชื่อเรื่อง ภาษาไทย** การแยกและเลี้ยง zooxanthellae สายพันธุ์ทนร้อนจากปะการังและหอยสองฝา

**ภาษาอังกฤษ** Isolation and culture of thermal tolerance stain of zooxanthellae from corals and marine bivalve

**ชื่อผู้วิจัย** รศ.ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ

ผศ.ดร.วรณพ วิยกาญจน์

**บทนำ**

ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว(coral bleaching) คือ ปรากฏการณ์ที่ปะการังมีสีซีดจางลง เนื่องจาก zooxanthellae ซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่ม dinoglagellate ที่อาศัยแบบพึ่งพาในเนื้อเยื่อของปะการังถูกขับออกมาภายนอกปะการังหรือตัวสาหร่ายเองสูญเสียรงควัตถุไป เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยสิ่งแวดล้อมรุนแรงปะการังจะมีการฟอกขาวอย่างสมบูรณ์(completely bleaching) สาเหตุของการเกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวมีหลายประการเช่น การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอย่างผิดปกติ การเปลี่ยนแปลงความเค็มเป็นต้น(Meehan และ Ostrander 1997) ตลอดช่วงสองทศวรรษที่ผ่านปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและมีแนวโน้มรุนแรงขึ้นตามลำดับโดยมีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากอุณหภูมิน้ำที่สูงกว่าค่าเฉลี่ยปกติ 1-2 องศาเซลเซียส

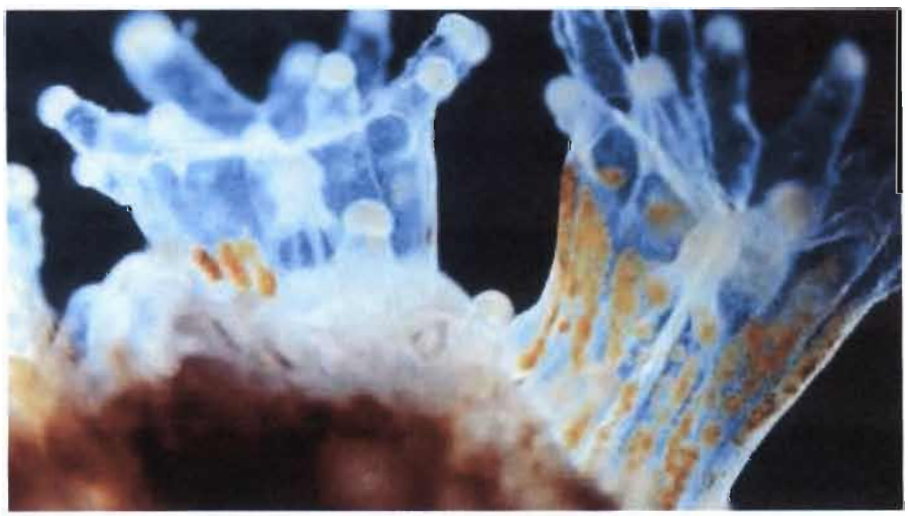
อย่างไรก็ตามพบว่าปะการังมีการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงขึ้นแตกต่างกัน แม้นในโคโลนีเดียวกันก็อาจพบบางส่วนไม่ฟอกขาว แสดงให้เห็นว่าอาจมี zooxanthellae หลายสายพันธุ์ทั้งที่ทนและไม่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่สูงขึ้นอาศัยอยู่ร่วมกัน ดังนั้นหากสามารถแยกและเลี้ยง zooxanthellae สายพันธุ์ที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้ก็อาจจะสามารถนำไปใช้ในการบรรเทาการเกิดปะการังฟอกขาวได้

ปะการังเป็นระบบนิเวศทางทะเลที่สำคัญ มีความอุดมสมบูรณ์และซับซ้อน มีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตมากมาย เป็นแหล่งอาศัยแหล่งเลี้ยงตัวอ่อนแหล่งอาหารและแหล่งหลบภัยของสิ่งมีชีวิต มนุษย์ใช้ประโยชน์จากแนวปะการังหลายประการเช่น เป็นแหล่งอาหาร แหล่งท่องเที่ยว เป็นต้น ปัจจุบันปัญหาโลกร้อนได้โน้มนำให้เกิดปัญหาปะการังฟอกขาวทั่วโลก ในประเทศไทย อุกกฤต สตภูมินทร์(2536) ศึกษาปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวที่เกิดขึ้นในทะเลอันดามันในปี พ.ศ. 2534 พบว่าปะการังแต่ละชนิดจะมีความไวและได้รับผลกระทบแตกต่างกันโดย *Acropola* spp. เป็นกลุ่มที่ไวและได้รับผลกระทบมากที่สุด Marshall และ Baird (2000)ทำการศึกษาบริเวณ Great Barrier Reef พบว่า กลุ่ม Acroporid และ Pocilloporids เป็นกลุ่มที่ผลกระทบมากในขณะที่กลุ่ม Poritids และ Favids ซึ่งมีการเติบโตต่ำกว่ากลับได้รับผลกระทบน้อยกว่า ดังนั้นการเกิดฟอกขาวในปะการังแต่ละชนิดจึงอาจจะมีสาเหตุมาจาก zooxanthellae ที่อยู่ในปะการังมีหลายสายพันธุ์อาศัยอยู่ร่วมกันทั้งที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นได้และที่ทนไม่ได้ หรืออาจมีบางส่วนที่สามารถปรับตัวให้ทนต่อการเปลี่ยนแปลง (Kinzie และ

Takayama et al. 2001) จากกรณีที่กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งได้รายงานผลการสำรวจสถานการณ์ปะการังฟอกขาวว่า งานวิจัยเกี่ยวกับปะการังฟอกขาวที่ทำกันมาอย่างต่อ เนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 พบว่าสภาวะของปะการังฟอกขาวในปี 2553 เป็นการฟอกขาวที่รุนแรงที่สุดเป็นประวัติการณ์ ซึ่งเป็นเรื่องที่น่าวิตกอย่างยิ่งสำหรับท้องทะเลไทย (ผู้จัดการออนไลน์ 14 มิถุนายน 2553) ในการศึกษาครั้งนี้จึงตั้งสมมติฐานว่ามี zooxanthellae สายพันธุ์ทนร้อนอาศัยอยู่ในปะการังและหอยสองฝาบางชนิด ดังนั้นการคัดเลือกและเพาะเลี้ยง zooxanthellae สายพันธุ์ทนร้อนได้ จะสามารถนำมาใช้ในการแก้ปัญหาปะการังฟอกขาวที่เกิดขึ้น

**งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

*Symbiodinium* sp. หรือ zooxanthellae อยู่ใน Division Dinophyta (Granados et al., 2008) เป็น dinoflagellate ขนาดประมาณ 10 - 20 ไมโครเมตร มีสีน้ำตาลทอง ดำรงชีวิตแบบพึ่งพา (symbiosis)ในสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังหลายชนิด (Raechel et al.,2008) เช่น ดอกไม้ทะเล ทากเปลือย หอยมือเสือ ปะการัง เป็นต้น (Venn et al., 2008) โดยจะมีลักษณะกลม ไม่เคลื่อนที่(coccoid form)เมื่ออาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดต่างๆ และมีลักษณะเช่นเดียวกับ dinoflagellate โดยทั่วไปคือ เป็น gymnodiniod form มีการสร้าง flagella เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่เมื่ออยู่ในมวลน้ำ



รูปที่ 1 การดำรงชีพแบบพึ่งพาของ zooxanthellae ในเนื้อเยื่อปะการัง
(ที่มา: http://serc.carleton.edu/eslabs/corals/2b.html)

Zooxanthellae ที่อาศัยแบบพึ่งพาในเนื้อเยื่อของปะการังมีบทบาทสำคัญในการดึงแคลเซียมคาร์บอเนตในมวลน้ำเพื่อให้ปะการังใช้ในการสร้างโครงร่างแข็ง ดังสมการที่แสดงต่อไปนี้

$$Ca^{2+} + 2HCO^{-} \longrightarrow Ca(HCO_3)_2 \qquad \text{(สมการที่ 1-1)}$$

จากนั้น $Ca(HCO_3)_2$ จะสลายตัวและให้ calcium carbonate และ carbon acid originate ซึ่ง calcium carbonate จากสมการนี้จะเป็นที่เป็นโครงร่างแข็งของปะการัง ดังสมการที่ 1-2

$$Ca(HCO_3)_2 \longrightarrow CaCO_3 + H_2CO_3 \qquad \text{(สมการที่ 1-2)}$$

จากนั้น carbon acid originate จะสลายตัวเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำในที่สุดดังสมการ1-3

$$H_2CO_3 \longrightarrow CO_2 + H_2O \qquad \text{(สมการที่ 1-3)}$$

นอกจากการดึงแคลเซียมเพื่อสร้างโครงร่างแข็งแล้ว zooxanthellae ยังเป็นแหล่งสร้างอาหารที่สำคัญให้กับกลุ่มดอกไม้ทะเลและปะการังสูงถึง95 เปอร์เซ็นต์ของแหล่งอาหารทั้งหมดโดยผ่านกระบวน การสังเคราะห์แสง (Lesser M P, 2003)

zooxanthellae เข้าสู่ปะการังได้ 2 ลักษณะด้วยกัน คือ

ระบบปิด หรือถ่ายทอดจากแม่สู่ลูกโดยตรง โดยการส่งผ่านจากไปยังไข่และสู่ตัวอ่อน ในที่สุด(Hirose *et al.*, 2000)

ระบบเปิด เป็นการที่ตัวอ่อนของปะการังได้รับเซลล์ zooxanthellae ที่ว่ายในมวลน้ำ(gymnodinoid cell) (Raechel *et al.*, 2008)

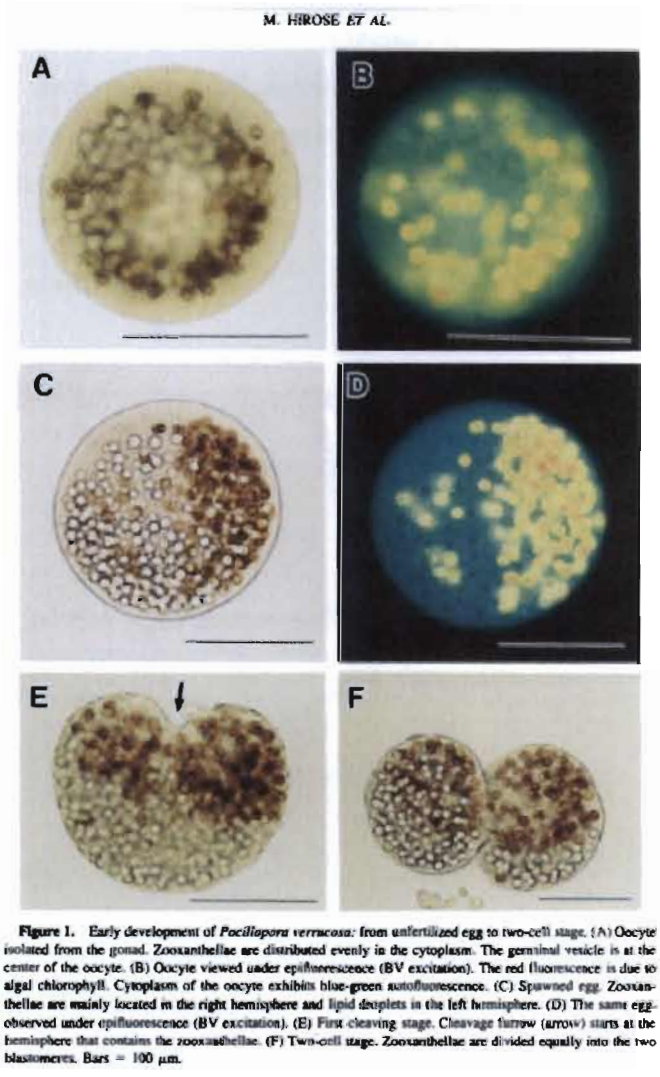



**Figure 1.** Early development of *Pocillopora verrucosa*: from unfertilized egg to two-cell stage. (A) Oocyte isolated from the gonad. Zooxanthellae are distributed evenly in the cytoplasm. The germinal vesicle is at the center of the oocyte. (B) Oocyte viewed under epifluorescence (BV excitation). The red fluorescence is due to algal chlorophyll. Cytoplasm of the oocyte exhibits blue-green autofluorescence. (C) Spawned egg. Zooxanthellae are mainly located in the right hemisphere and lipid droplets in the left hemisphere. (D) The same egg observed under epifluorescence (BV excitation). (E) First cleaving stage. Cleavage furrow (arrow) starts at the hemisphere that contains the zooxanthellae. (F) Two-cell stage. Zooxanthellae are divided equally into the two blastomeres. Bars = 100 μm.

รูปที่ 2 zooxanthellae ที่อยู่ภายในไข่ของปะการัง(Hirose *et al.*,2000)

ดังนั้นการเลี้ยง zooxanthellae จึงมีความสำคัญและเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงปะการังและสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกชนิดอื่นๆ

**ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว (Coral Bleaching)**

ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว หรือ coral bleaching เป็นปรากฏการณ์ที่เป็นสาเหตุให้ปะการังตายเป็นจำนวนมาก เริ่มมีการสนใจศึกษาตั้งแต่ปี 1980 ซึ่งในสมัยนั้นพบว่าปรากฏการณ์ดังกล่าวเป็นผลมาจากการเกิด El Nino-Southern Oscillation (ENSO) ทำให้ปะการังตายเป็นจำนวนมาก ต่อมาเมื่อมีการศึกษามากขึ้นพบว่าปรากฏการณ์ดังกล่าวมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย ปัจจัยที่สำคัญคือการที่อุณหภูมิเฉลี่ยผิวน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้น (Baker et al., 2008) ส่งผลให้ zooxanthellae ที่อาศัยแบบพึ่งพาภายในตัวปะการัง (endosymbiosis) ไม่สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจึงออกจากเนื้อเยื่อปะการังทำให้ปะการังมีสีขาวกลายเป็นสีขาวส่งผลให้ปะการังขาดแคลนอาหารและตายลงในที่สุด ซึ่งปรากฏการณ์นี้ไม่ได้พบเฉพาะแต่ในปะการังเท่านั้น ยังพบในสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังอื่นๆ ที่มี zooxanthellae อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อ ไม่ว่าจะเป็นฟองน้ำ ทากเปลือย หรือในดอกไม้ทะเลเองก็พบการฟอกขาวด้วยเช่นกัน การศึกษาของ Rowan ในปี 1997 พบว่า การฟอกขาวที่เกิดขึ้นในสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังนั้นมีความแตกต่างกันระหว่างชนิดของ zooxanthellae ที่สามารถแบ่งได้เป็นหลาย clade ด้วยกัน ส่งผลให้ความสามารถในการทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมนั้นมีความแตกต่างกันในแต่ละเจ้าบ้าน (Host) ทำให้อัตราการฟอกขาวในปะการังสูงกว่าในสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังอื่นๆ (Louis et al., 2002)

**วัตถุประสงค์ของโครงการ**

เพื่อแยกและเพาะเลี้ยง zooxanthellae สายพันธุ์ทนร้อน

**ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

ได้ zooxanthellae สายพันธุ์ทนร้อน เพื่อใช้ในการบรรเทาปัญหาปะการังฟอกขาวและการฟื้นฟูปะการัง

**วิธีดำเนินการวิจัย**

1. **พื้นที่ศึกษา**

ทำการศึกษาในแนวปะการังบริเวณเกาะปลาหมึก หมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

รูปที่ 3 สถานีเก็บตัวอย่างบริเวณเกาะปลาหมึกซึ่งอยู่บริเวณทิศใต้ของเกาะแสมสาร

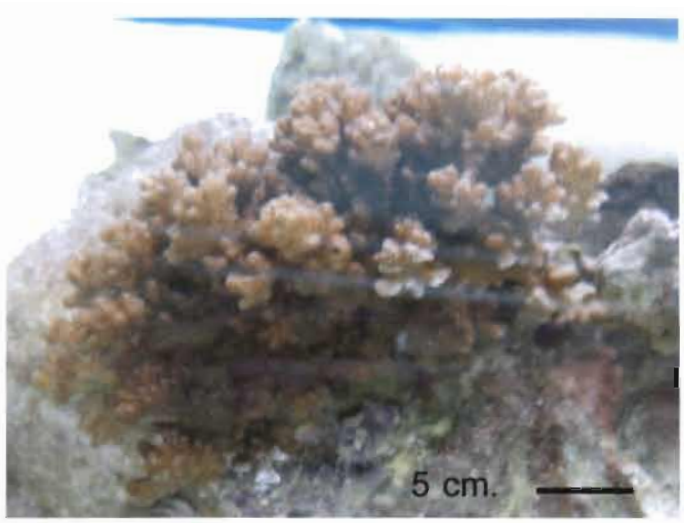
2. **การเก็บตัวอย่าง**

**ปีงบประมาณ 2555**

ทำการเก็บตัวอย่างปะการังและหอยสองฝา หรือสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่นอย่างน้อย 3 ครั้งต่อปี จากแนวปะการังบริเวณเกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี โดยจะทำการเก็บตัวอย่างสัตว์ทะเลดังกล่าวนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อทำการแยกและเพาะเลี้ยง zooxanthellae

3. **การแยกและเพาะเลี้ยง zooxanthellae**

ทำการแยกและเลี้ยง zooxanthellae จากปะการัง *Pocillopora damicornis* และดอกไม้ทะเลที่เก็บจากแนวปะการังบริเวณเกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี โดยวิธี capillary technique ที่ห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอนพืช ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตามขั้นตอนต่างๆ ดังนี้




รูปที่ 4 ปะการัง *Pocillopora damicornis* ใช้ในการแยก zooxanthellae

รูปที่ 5 ดอกไม้ทะเลที่ *Anthopleura* sp.ใช้ในการแยก zooxanthellae
(ที่มา: http://www.krunok.net/index2.php/?p=1388)

**3.1 การเตรียมเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ**

เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการเพราะเลี้ยงผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำยาทำความสะอาด (Detergent) แล้วแช่ด้วยกรดเกลือความเข้มข้น 10% จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด ตามด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อในตู้อบไอน้ำ (autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.25 บรรยากาศ เวลา 20 นาที

**3.2 การทำน้ำทะเลกรองสำหรับเลี้ยง zooxanthellae**

น้ำทะเลที่นำมากรองเพื่อใช้ในการเลี้ยง zooxanthellae เป็นน้ำทะเลธรรมชาติบริเวณใกล้เคียงที่ทำการเก็บตัวอย่างปะการัง นำมากรองผ่านผ้ากรองขนาด 150 ไมโครเมตรเพื่อกรองเอาขยะออก จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Millipore ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

**3.3 การแยก zooxanthellae จากปะการังและดอกไม้ทะเล**

สำหรับการแยก zooxanthellae ในระยะแรกนั้น ได้ทำการทดลองแยกโดยการสั่นสะเทือนด้วยเครื่อง sonicator โดย มีขั้นตอนดังนี้

3.3.1 หักปะการังเป็นชิ้นขนาดประมาณ 5 เซนติเมตร ใส่ในบีกเกอร์ที่มีน้ำทะเลกรองแล้วนำบีกเกอร์ไปใส่ในเครื่อง sonicator ทำการ sonicate เป็นเวลา 5 – 10 นาที zooxanthellae จะหลุดออกจากเนื้อเยื่อปะการังมาอยู่ในมวลน้ำ จะสังเกตุเห็นน้ำทำเลกรองมีสีน้ำตาลซึ่งเป็นสีของ zooxanthellae

3.3.2 นำน้ำที่ได้จาก 3.3.1 กรองผ่านผ้ากรองขนาดตา 200 ไมโครเมตร เพื่อกรองเอาเมือกที่มาจากปะการังออก และกรองอีกครั้งด้วยผ้ากรองขนาด 20 ไมโครเมตรเพื่อเอาแพลงก์ตอนอื่นที่ปนเปื้อนออกให้มากที่สุด

3.3.3 ทำการเหวี่ยงตะกอนน้ำส่วนที่ผ่านการกรองในข้อ 3.3.2 จะได้ zooxanthellae ตกตะกอนที่ก้นหลอด นำ zooxanthellae ทีได้มาทำการแยกด้วยเทคนิค pasteur pipette single cell isolate แล้วนำเซลล์ที่แยกได้ลงเลี้ยงใน multiwall plate ด้วยสูตรอาหารชนิดต่างๆ
*การแยก zooxanthellae จากดอกไม้ทะเลใช้วิธีแยกดังกล่าวในข้างต้น

3.3.4 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง zooxanthellae ในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาการเติบโตของ zooxanthellae ในอาหารสูตรต่างๆ จากเซลล์ที่แยกได้จากข้อ 3.3.3 สูตรสารอาหารที่ใช้เลี้ยงในการทดลองในครั้งนี้มีสูตรต่างๆ ดังนี้

3.3.4.1 สูตรอาหาร T1 (ฐิติมา ทนนกลิ่น, 2551)

3.3.4.2 สูตรอาหาร T1 เพิ่มธาตุอาหารซิลิเกต

3.3.4.3 สูตรอาหาร ESM (Okaichi et al. 1982)

3.3.4.4 สูตรอาหาร Daigo (ดังแสดงรายละเอียดของสูตรอาหารในภาคผนวก หน้า 19)

ในการเตรียมน้ำทะเลสำหรับการเพาะเลี้ยงให้ใช้น้ำทะเลกรองที่ได้จากข้อ 3.2 ทุกสูตรอาหารทำการละลายเก็บเป็นสารละลายเข้มข้น เมื่อใช้งานจึงนำมาเจือจางตามต้องการ จากนั้นปรับ pH ตามการทดลองคือ pH 6, 6.5, 7, 7.5 และ pH 8 ด้วย HCl 1.0 M จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยตู้อบไอน้ำ (autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.25 บรรยากาศ เวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปเลี้ยงแพลงก์ตอน โดยใช้พาสเจอร์ปิเปตที่ดึงปลายแล้ว ดึงเซลล์ Zooxanthellae ที่แยกจากปะการังและดอกไม้ทะเล ใส่ลง Multiwell plate ขนาด 48 หลุม ที่มีอาหารสูตรต่างๆ ที่ต้องการทดลอง ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในห้องบ่มเชื้อที่ปัจจัยสภาพแวดล้อมดังแสดงในข้อ 3.4

ทำการสุ่มนับทุกวัน เพื่อนับจำนวนเซลล์ และสังเกตลักษณะของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป ด้วยกล้องจุลทรรศน์

**3.4 สภาพแวดล้อมของตู้บ่มเชื้อ**

ทำการทดลองอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 5000 ลักซ์ และช่วงเวลาให้ความสว่าง : ช่วงมืด เท่ากับ 12 : 12 ชั่วโมง

**3.5 ศึกษาช่วงเวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ Zooxanthellae ในรอบ 24 ชั่วโมง**

นับเซลล์เริ่มต้นในหลุมทดลอง จากนั้นทำการนับจำนวนเซลล์ที่อยู่ในรูป Coccoid cell ทุกต้นชั่วโมงจนครบ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ระหว่าง coccoid cell : gymnodinoid cell

**3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล**

3.6.1 หาอัตราการเจริญเติบโต (Growth rate)

คำนวณจากสมการ (Janet R. S., 1973)

$$\mu = (\ln N_t - \ln N_0)/(t_t - t_0) \qquad \text{วัน}^{-1}$$

เมื่อ $\mu$ คือสัมประสิทธิ์เติบโตของเซลล์

t คือเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง(วัน)

$N_0$ และ $N_t$ (เซลล์/มล.) คือจำนวนเซลล์เริ่มต้นที่เวลา $t_0$ และจำนวนเซลล์ที่เวลา $t_t$ ตามลำดับ

ทำการหาเวลาที่จำนวนเซลล์ zooxanthellae เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า (Generation time)โดยคำนวณได้จากสมการ (Janet R. S., 1973)

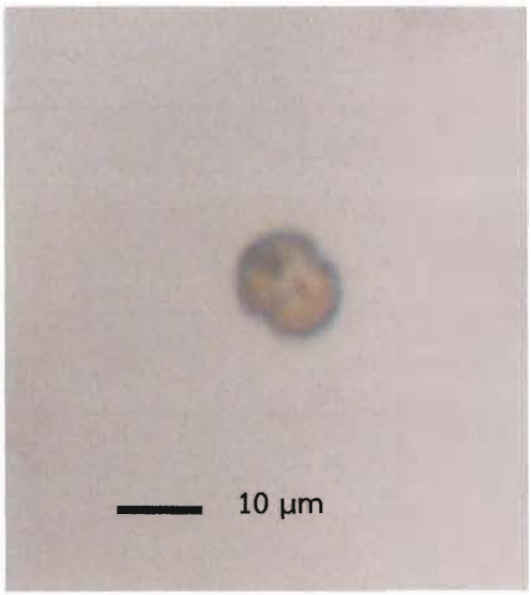
$$T = \ln 2 / \mu \quad \text{วัน}$$

**ผลการดำเนินการ**

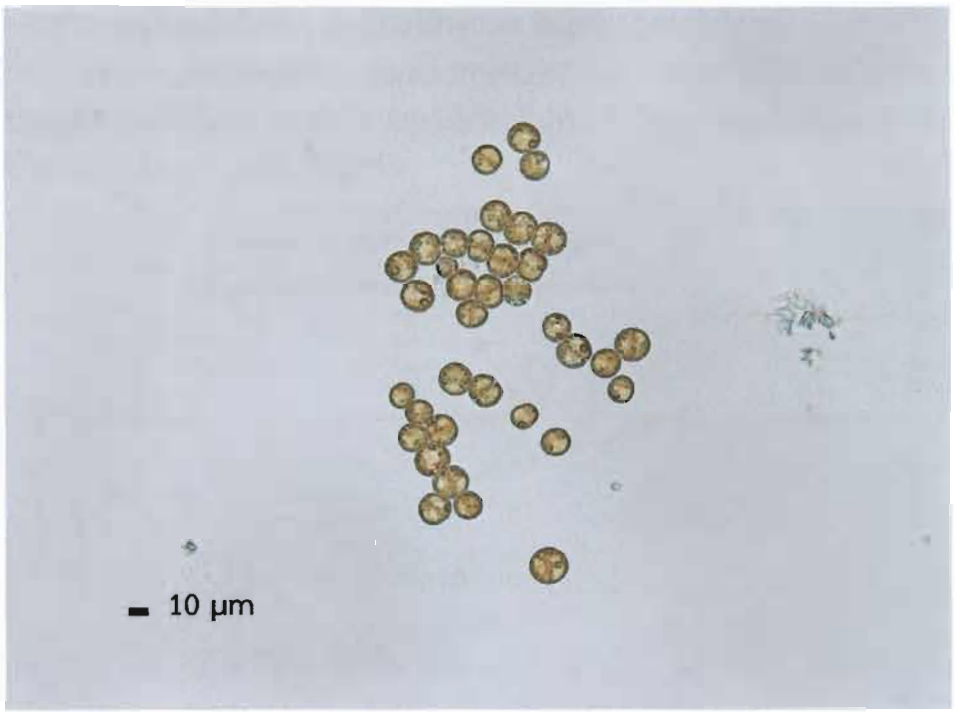
**1. zooxanthellae ที่แยกได้จากปะการัง**

การศึกษาในปี 2555 ยังไม่สามารถเพาะเลี้ยง zooxanthellae ที่แยกได้จากปะการังได้สำเร็จ เนื่องจากมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียมากทำให้เซลล์ที่แยกได้ตาย อย่างไรก็ตามจากการสังเกตเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์พบเซลล์ zooxanthellae ได้ทั้ง 2 รูปแบบ ขนาดเซลล์ประมาณ 10 ไมโครเมตร คือ เซลล์ลักษณะกลมไม่เคลื่อนที่ coccoid cell และ gymnodinoid cell ที่สามารถว่ายน้ำได้เซลล์มี flagella และสังเกตเห็นส่วนของ epicone และ hypocone ได้ชัดเจน ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญโดยทั่วไปของไดโนแฟลกเจลเลต(รูปที่ 6 และ7)

ผลของปัจจัยต่างๆต่อการเพาะเลี้ยง แม้ว่า zooxanthellae ที่แยกจากปะการังจะไม่มีการเติบโตในอาหารทั้ง 4 สูตร แต่ในสูตร Daigo ลักษณะเซลล์สมบูรณ์มากที่สุด โดยสังเกตจากรูปร่าง และสีของ zooxanthellae การทดลองเลี้ยงใน pH ต่างๆ พบว่า Zooxanthellae จากปะการังในอาหารสูตร Daigo ไม่มีการเจริญเติบโตเช่นกัน แต่ลักษณะเซลล์จะสมบูรณ์ใน pH 6.5, 7 และ pH 8



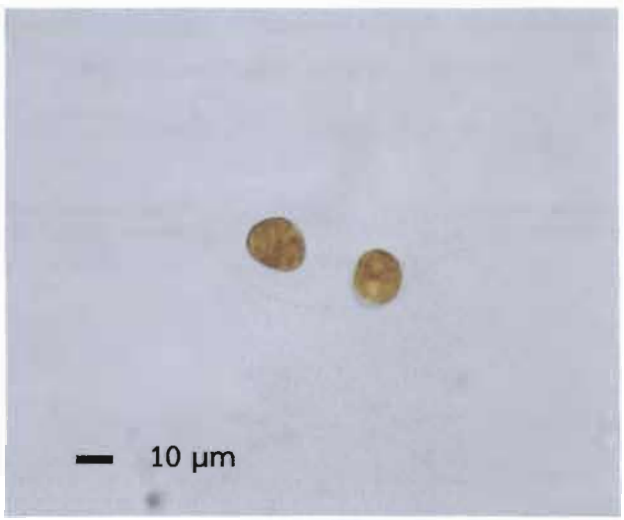

รูปที่ 6 gymnodinoid cell ของ zooxanthellae ที่ได้จากปะการัง




รูปที่ 7 coccoid cell ของ zooxanthellae ที่ได้จากปะการัง

**2. zooxanthellae ที่แยกได้จากดอกไม้ทะเล**

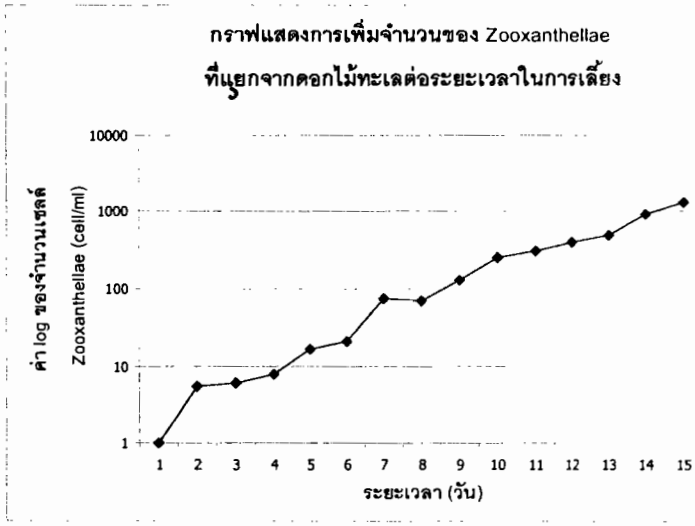
การแยกและเพาะเลี้ยง zooxanthellae จากตัวอย่างดอกไม้ทะเล (*Anthopleura* sp.) ทั้งสิ้น 3 ครั้ง พบว่า zooxanthellae ที่แยกได้นั้นเติบโตได้ดีใน Daiko Medium (รูปที่ 8) แต่ไม่สามารถเติบโตในอาหารสูตรอื่นๆ




รูปที่ 8 coccoid cell ของ zooxanthellae ที่แยกจากดอกไม้ทะเล *Anthopleura* sp.

**3. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ zooxanthellae ที่แยกจากดอกไม้ทะเล**

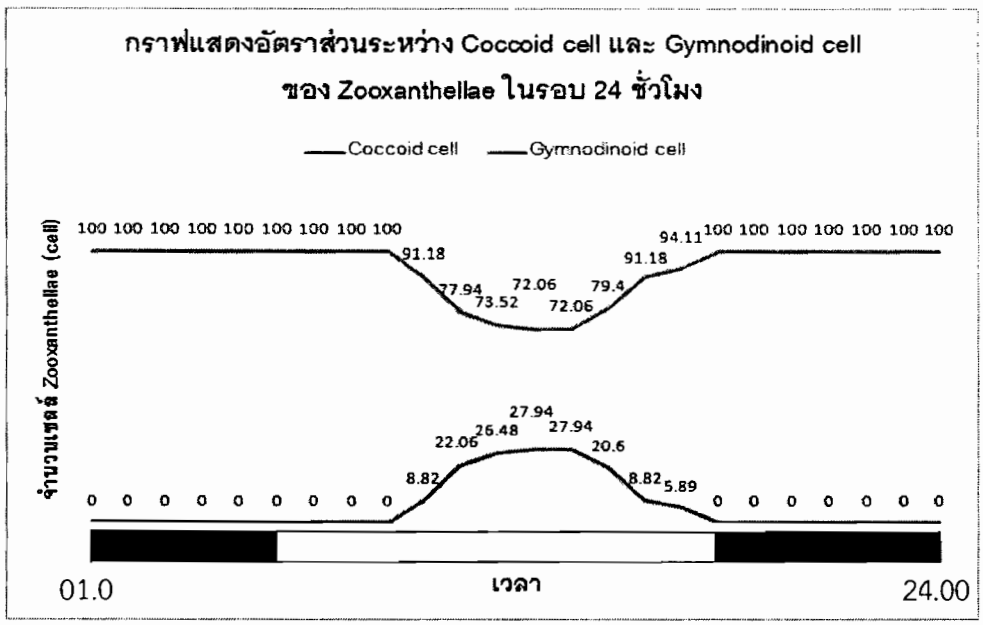
การทดลองหาอัตราการเจริญเติบโตของ zooxanthellae ที่แยกจากดอกไม้ทะเลเป็นเวลา 15 วัน พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต 0.43 ต่อวัน และใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่า 0.71 วัน ดังแสดงการเติบโตของ zooxanthellae ในรูปที่ 9




รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ zooxanthellae กับระยะเวลาที่ทำการเลี้ยง

**4. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเซลล์ zooxanthellae ในรอบ 24 ชั่วโมง**

การสังเกตุการเปลี่ยนปลงรูปร่างเซลล์พบว่า zooxanthellae สามารถเปลี่ยนรูปไปมา ระหว่าง coccoid cell และ gymnodinoid cell โดยในช่วงที่มีแสงสว่างเซลล์ส่วนใหญ่จะเปลี่ยนรูปร่างเป็น gymnodinoid cell ในทางตรงกันข้ามเมื่อเข้าสู่ช่วงไม่มีแสงเซลล์ส่วนใหญ่จะเปลี่ยนรูปร่างเป็น coccoid cell ดังแสดงในรูที่ 10




รูปที่ 10 อัตราส่วนร้อยละ ระหว่าง coccoid cell ต่อ gymnodiniod cell ใน 24 ชั่วโมง

Zooxanthellae จะเปลี่ยนรูปร่างเป็น gymnodinoid cell ในบางช่วงเวลาของวันเท่านั้น พบว่าหลังจากได้รับแสงประมาณ 2–3 ชั่วโมง คือช่วงเวลา 10.00 น. เป็นต้นไป Zooxanthellae จึงเริ่มมีการเปลี่ยนรูปร่างเป็น gymnodinoid cell ว่ายอยู่ในมวลน้ำ สามารถมองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อย่างชัดเจน และมีปริมาณสูงสุดในช่วงเวลา 13.00 น.–14.00 น. จากนั้นจะเปลี่ยนรูปร่างกลับสู่ coccoid cell ประมาณเวลา 18.00 น. ซึ่ง coccoid cell จะเห็นเป็นเซลล์ลักษณะกลมบางติดอยู่ที่ผิวพื้นของ multiwell plate อย่างไรก็ตามปริมาณของ coccoid cell จะพบมากกว่า gymnodinoid cell เสมอทุกช่วงเวลา

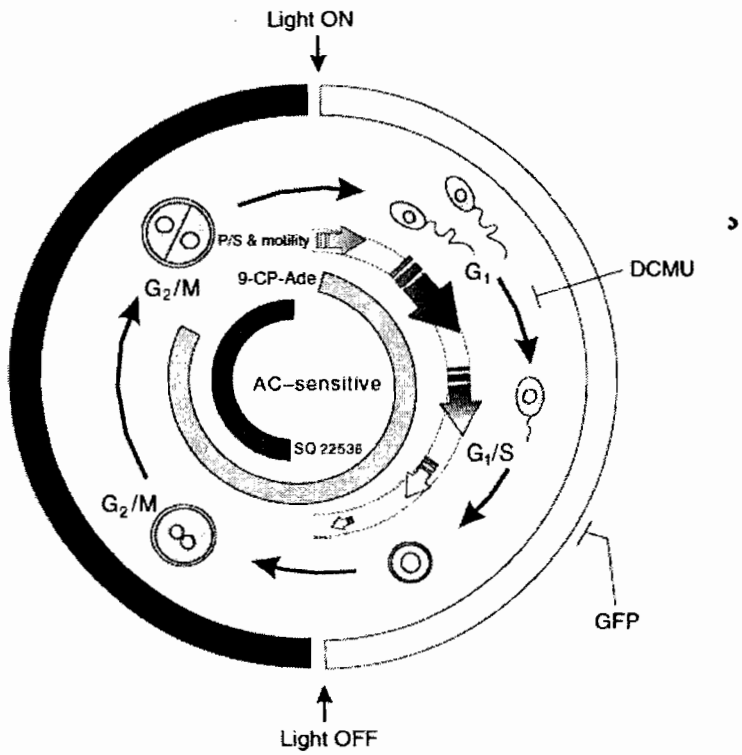
ในระหว่างทำการทดลองสังเกตพบว่า zooxanthellae จะเริ่มมีการแบ่งเซลล์ในช่วงเวลากลางคืน โดยจะสังเกตพบเซลล์มีลักษณะคอดตรงกลางชัดเจนในเวลาประมาณ 03.00 น. และไปสิ้นสุดขั้นตอนการแบ่งเซลล์ในเวลากลางวัน ทั้งนี้จะพบการแบ่งเซลล์ที่สมบูรณ์มากในเวลา 13.00 น. – 14.00 น. การแบ่งเซลล์ดังกล่าวจะเกิดใน coccoid cell และเมื่อแบ่งเซลล์สิ้นสุด เซลล์ที่แบ่งออกมาใหม่นั้นจะเปลี่ยนรูปร่างเป็น gymnodinoid cell ซึ่งเซลล์ที่หลุดออกมาก่อนจะว่ายขึ้นสู่มวลน้ำเป็นลำดับแรก จากนั้นไม่นานอีกเซลล์จึงว่ายขึ้นสู่มวลน้ำ ทำให้พบเซลล์รูปร่าง gymnodinoid cell ในช่วงเวลาดังกล่าวเป็นจำนวนมาก

## วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะเซลล์ Zooxanthellae ใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะเซลล์ของ zooxanthellae ที่แยกได้ในห้องปฏิบัติการมีลักษณะเซลล์ 2 รูปแบบด้วยกัน คือในรูปแบบที่เป็น Free-living อาศัยในมวลน้ำ (gymnodinoid cell) มีลักษณะเป็น Dinoflagellate คือเห็นร่อง Cingulum พาดกลางลำตัวลักษณะคล้ายเลข 8 อีกรูปแบบคือรูปแบบเซลล์ที่ไม่เคลื่อนที่ อาศัยอยู่ภายในเซลล์ของเจ้าบ้านหรือ coccoid cell มีลักษณะกลม สีน้ำตาลทอง ขนาดประมาณ 10 μm เช่นเดียวกับการศึกษาของ Raechel และคณะ ในปี ค.ศ.2008 และ Hagedorn และคณะ ในปี ค.ศ. 2010 การศึกษาของทั้งสองงานวิจัยพบว่า Zooxanthellae มีขนาดประมาณ 10 - 20 μm

เมื่อทำการเลี้ยง Zooxanthellae ที่แยกจากปะการังในสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร คือ T1, T1 เพิ่มธาตุซิลิเกต, ESM และ Daigo พบว่าไม่มีการเติบโตของ zooxanthellae ทั้งที่การทดลองของ Carlos และคณะ (1999) สามารถเลี้ยง zooxanthellae และมีการเจริญเติบโตได้ในอาหารสูตร ESM คาดว่ามีสาเหตุจากการที่ zooxanthellae เองมีหลายสายพันธุ์ และปะการังที่ใช้ในการทดลองมาจากคนละบริเวณซึ่งอาจทำให้มีความแตกต่างของสายพันธุ์ ส่วนการทดลองความเหมาะสมของ pH ที่ใช้เลี้ยง zooxanthellae นั้นจากการทดลองเลี้ยงของ Masuda และคณะ (1994) พบว่า zooxanthellae สามารถเลี้ยงได้ใน pH 6.5 – 9 โดยเติบโตได้ดีใน pH 8 ซึ่งผลที่ได้ตรงกับการทดลองในห้องปฏิบัติการ pH ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง zooxanthellae คือ pH 6.5, 7 และ pH 8 จึงใช้อาหารสูตร Daigo ที่ pH 8 ทำการเลี้ยง zooxanthellae ที่แยกจากดอกไม้ทะเลเพื่อหาอัตราการเจริญเติบโต ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.43 วัน และมี generation time หรือระยะเวลาที่เซลล์ใช้ในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าของจำนวนเซลล์เดิม มีค่าเท่ากับ 0.71 วัน ซึ่งการศึกษาของ Stephen และคณะ ในปี 1986 พบว่าอัตราการแบ่งเซลล์ของ zooxanthellae มีค่าเท่ากับ $0.39 \pm 0.18$ ต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างกันมากระหว่างสองการทดลอง

ระหว่างศึกษาอัตราการเจริญเติบโตพบว่า zooxanthellae มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในรอบวัน ระหว่าง coccoid cell และ gymnodinoid cell จึงทำการศึกษาอัตราการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในรอบ 24 ชั่วโมง พบว่าหลังจากที่ coccoid cell ได้รับแสงประมาณ 3 ชั่วโมง จะมีบางเซลล์เปลี่ยนรูปมาเป็น gymnodinoid cell และกลับไปเป็น coccoid cell อีกครั้งเมื่อไม่มีแสง สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang และคณะ ในปี 2008 ที่ได้ศึกษาวงชีวิตของ zooxanthellae ในช่วงเวลากลางวันและกลางคืน พบว่าเซลล์ของ zooxanthellae เริ่มมีการแบ่งเซลล์ในช่วงกลางคืน และแบ่งเซลล์สิ้นสุดในเวลากลางวัน ทำให้พบเห็นเซลล์ zooxanthellae ที่มีรูปร่าง gymnodinoid cell ในช่วงเวลาดังกล่าว ดังแสดงในรูปที่ 11




รูปที่ 11 แสดงวงชีวิตของ zooxanthellae (Wang et al.,2008)

ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ใช้ประกอบการเลี้ยง zoxanthellae และงานวิจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง นอกจากนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนปะการัง ตามที่มีการศึกษาพบว่า zooxanthellae เข้าไปมีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนปะการังตั้งแต่ระยะที่เป็นไข่ (Hirose et al.,2000) ตลอดจนมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของปะการัง รวมทั้งการศึกษาเพื่อการฟื้นฟูปะการังภายหลังการเกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวที่สร้างความเสียหายอย่างยิ่งต่อแนวปะการังทั้งในประเทศไทย และต่างประเทศ

**งานที่จะดำเนินการในขั้นต่อไป**

1. จะทำการปรับวิธีการในการแยก zooxanthellae จากปะการังใหม่เนื่องจากการแยกเลี้ยงที่ผ่านมาพบว่ามีการปนเปื้อนเมือกที่ปะการังขับออกมาและแบคทีเรียเติบโตเร็วมาก

2. จะทำการแยก zooxanthellae จากสัตว์ทะเลที่กำหนดในวิธีการศึกษาให้ได้มากสายพันธุ์เพื่อทดสอบสายพันธุ์ทนร้อนต่อไป

## เอกสารอ้างอิง


อุกกฤต สตภูมินทร์ 2536. การตอบสนองของปะการังและแนวปะการังต่อเหตุการณ์การฟอกขาวของแนวปะการัง พ.ศ. 2534 ในทะเลอันดามัน ประเทศไทย วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 117 หน้า

Baker,A. C., Glynn,P.W. and Riegl B. 2008. Climate change and coral reef bleaching: An ecological assessment of long-term impacts, recovery trends and future outlook. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 80, 435-471

Edmunds, P. J., Gates, R. D., Leggat, W., Hoegh-Guldberg, O. and Allen-Requa, L. 2005. The effect of temperature on the size and population density of dinoflagellates in larvae of the reef coral Porites astreoides. *Invertebrate Biology*, 124, 185-193.

Granados,C., Camargo,C., Zea,A. and Sanchez, J.A. 2008. Phylogenetic relationship among zooxanthellae (Symbiodinium) associated to excavating sponges (*Cliona* spp.) reveal an unexpected lineage in the Caribean. *Molecular Phylogenetic and Eolution*, 49, 554-560

Hagedorn, M.C., Carter, V.L., Leong, J.C. and Kleinhans, F.W. 2010. Physiology and cryosensitivity of coral endosymbiotic algae (*Symbiodiniom*). *Cryobiology*. 60. 147 - 158

Hirose, M., Kinzie, R.A. and Hidaka, M. 2000. Early Development of Zooxanthella-Containing Eggs *of the Corals Pocillopora verrucosa and P. eydouxi* with Special Reference to the Distribution of Zooxanthellae. *Biol Bull.* 199. 68 - 75

How Reefs are Built. *Oracle Education Foundation*. http://library .thinkquest .org /25713 /reefs_made1.html (สืบค้นเมื่อ วันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2554)

Khalesi, M.K. 2008. Cell cultures from the symbiotic soft coral Sinularia flexibilis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 44, 330-338.

Kinzie, R. A., and Takayama, M. 2001. The adaptive bleaching hypothesis: Experimental tests of critical assumptions. *Biological Bulletin* 200(1): 51-58.

Leggat, W., Whitney, S. and Yellowless, D. 2004. Is coral bleaching due to the instability of the zooxanthellae dark reactions? *Symbiosis*, 37, 137-153.

Lesser, M. P. 2004. Experiment biology of coral reef ecosystems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 300, 217-252

Louis, C. and Schleyer, M. H. 2002. Coral bleaching on high-latitude marginal reef at Sodwana Bay, South Africa. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 1380-1387

Mclaughlin, J.J.A. and Zahl,P.A. 1959. Axenic zooxanthellae from various invertebrate hosts. *Ann. N. Y. Acad. Sci. 77. 55-72*

Meehan, W. J. and Ostrander, G. K. 1997. Coral bleaching: A potential biomarker of environmental stress. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 50(6):

529-552.

Raechel, A.,Littman, J. H. van., Oppen, Bette, L. and Willis,Y. 2008. Methods for sampling free-living *Symbiodinium* (Zooxanthellae) and their distribution and abundance at Lizard Island (Great Berrier reef)*Journal of experimental of Marine Biology and Ecology, 364, 48-53.*

Stephen,L.D. and Christopher,F.D. 1986. Cell-Size distributions of zooxanthellae in culture and symbiosis. *Biol. Bull.* 170. 519 - 525

Strychar, K. B., M. Coates, et al. (2005). Loss of Symbiodinium from bleached soft corals *Sarcophyton ehrenbergi*, *Sinularia* sp. and *Xenia* sp. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 320(2): 159-177.

VENN,A.A.,LORAM,J.E. & DOUGLAS,A.E.2008. Photosynthetic symbioses in animals. *Journal of Experimental Botany,* 59, 1069-1080.

Wang,L.H., Liu,E.Y., Ju,Y.M., Hsiao,Y.Y. Fang,L.S. and Chen,C.S. 2008. Cell cycle propagation is driven by light–dark stimulation in a cultured symbiotic dinoflagellate isolated from corals. *Coral.* 27. 823 – 835

I25898425

# ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. สูตรอาหารสำเร็จรูป Daigo

สารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแพลงค์ตอน เตรียมจากสูตรสำเร็จรูป Daigo โดยทำเป็นสารละลายเข้มข้น (Stock solution) ในปริมาตร 10 มิลลิลิตร เมื่อใช้งานจึงนำมาเจือจางในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตร ในน้ำทะเลกรอง 1000 มิลลิลิตร อาหารสำเร็จรูปมีองค์ประกอบของธาตุอาหารต่างๆ ดังนี้

| อัตราส่วน mg /1,000 mL | |
|---|---|
| $NaNO_3$ | 200 |
| $Na_2HPO_4$ | 1.4 |
| $K_2HPO_4$ | 5 |
| $NH_4Cl$ | 2.68 |
| Fe-EDTA | 5.2 |
| Mn-EDTA | 0.332 |
| $Na_2$-EDTA | 37.2 |
| $ZnSO_4$ .$7H_2O$ | 0.023 |
| $CoSO_4$ .7 $H_2O$ | 0.014 |
| $Na_2MoO_4$ .2 $H_2O$ | 0.0073 |
| $CuSO_4$ .7 $H_2O$ | 0.0025 |
| $H_2SeO_3$ | 0.0017 |
| Thiamin-HCl | 0.2 |
| Biotin | 0.0015 |
| Vitamin $B_{12}$ | 0.0015 |
| $MnCl_2$ .4 $H_2O$ | 0.018 |

ภาคผนวก ข. ค่าเฉลี่ยการเพิ่มจำนวนของ zooxanthellae ที่แยกจากดอกไม้ทะเล

| ระยะเวลา (วัน) | จำนวนเซลล์ (cell/ml) |
|---|---|
| 1 | 1 |
| 2 | 6 |
| 3 | 6 |
| 4 | 8 |
| 5 | 17 |
| 6 | 21 |
| 7 | 73 |
| 8 | 68 |
| 9 | 127 |
| 10 | 253 |
| 11 | 312 |
| 12 | 401 |
| 13 | 491 |
| 14 | 902 |
| 15 | 1314 |

ภาคผนวก ค. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์แสดงสัดส่วนระหว่าง Coccoid cell : Gymnodinoid cell

| เวลา | % Coccoid cell | % Gymnodinoid cell |
|---|---|---|
| 01.00 | 100 | 0 |
| 02.00 | 100 | 0 |
| 03.00 | 100 | 0 |
| 04.00 | 100 | 0 |
| 05.00 | 100 | 0 |
| 06.00 | 100 | 0 |
| 07.00 | 100 | 0 |
| 08.00 | 100 | 0 |
| 09.00 | 100 | 0 |
| 10.00 | 91.18 | 8.82 |
| 11.00 | 77.94 | 22.06 |
| 12.00 | 73.52 | 26.48 |
| 13.00 | 72.06 | 27.94 |
| 14.00 | 72.06 | 27.94 |
| 15.00 | 79.4 | 20.6 |
| 16.00 | 91.18 | 8.82 |
| 17.00 | 94.11 | 5.89 |
| 18.00 | 100 | 0 |
| 19.00 | 100 | 0 |
| 20.00 | 100 | 0 |
| 21.00 | 100 | 0 |
| 22.00 | 100 | 0 |
| 23.00 | 100 | 0 |
| 24.00 | 100 | 0 |

# ประวัติผู้วิจัย

ชื่อหัวหน้าโครงการ

นายไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ ตำแหน่งวิชาการ รองศาสตราจารย์

Mr. Thaithaworn LIrdwitayaprasit

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะ วิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 02 2185394-95

ที่อยู่ปัจจุบัน 108/8 ซ.เทอดไท 33 ถ.เทอดไท บุคคโล ธนบุรี กรุงเทพฯ 10600 โทรศัพท์ 02-4766366

ประวัติการศึกษา

| มหาวิทยาลัย | ปริญญา | สาขาวิชา | ปีที่ได้รับ พ.ศ. |
|---|---|---|---|
| จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย | ตรี | วิทยาศาสตร์ทางทะเล | 2524 |
| จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย | โท | วิทยาศาสตร์ทางทะเล | 2530 |
| Ehime University, Japan | เอก | Marine Ecological Chemistry | 2533 |

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่

1. Sriwoon, R., P. Pholpunthin, T. Lirdwitayaprasit, M. Kishino and K. Furuya. 2008. Population dynamics of green *Noctiluca scintillans* (Dinophyceae) associated with the monsoon cycle in the Upper Gulf of Thailand. *J. Phycol.*44: 605-615
2. Lirdwitayaprasit, T., D. Panuksubkasul, Y. Takata, S. Sato, M. Kodama, and Y. Fukuyo. 2008. Occurrence of *Gymnodinium catenatum* in the Gulf of Thailand. *Mar. Res.Indonesia*. Vol. 33 (1): 87-89
3. Takata, Y., S. Sato, D.V. Ha, U.M. Montojo, T. Lirdwitayaprasit, S. Kamolsiripichaiporn, Y.Kotaki,Y. Fukuyo, and M. Kodama. 2009. Occurrence of domoic acid in tropical bivalves. *Fish Sci* 75:473–480
4. Sananurak, C., T. Lirdwitayaprasit, and P. Menasveta. 2009. Development of a closed-recirculating, continuous culture system for microalga (*Tetraselmis suecica*) and rotifer (*Brachionus plicatilis*) production. *Science Asia*. 35: 118-124
5. Sananurak, C., T. Lirdwitayaprasit, W.F. Arlo and P. Menasveta. 2009. Effects of L-carnitine on the green microalga, *Tetraselmis suecica*, and euryhaline rotifer, *Brachionus plicatilis*, as food sources for larval white seabase, *Latescalcarifer J. Sci.Res.Chula.Univ.* Vol.34(1):1-11
6. Gorcharoenwat, P., Lirdwitayaprasit, T. and Tunkijjanukij, S. 2010. A Comparative Study of *Perna viridis* Production between Long-line and Raft Culture Methods at Siracha District, Chonburi Province. *Burapha Sci. J.* 15 (2) : 37-46
7. Lirdwitayaprasit, T., Chuabkarnrai, P., Nitithamayong, C. and Furuya , K. 2012. Effect of salinity on vertical migration of green Noctiluca under laboratory conditions. *Coastal Marine Science*. 35(1):70-72

8. Srivilai, D., Lirdwitayaprasit, T. and Fukuyo, Y. 2012. Distribution of dinoflagellate cysts in the surface sediment of the coastal areas in Chonburi Province, Thailand. *Coastal Marine Science*. 35(1):11-19

โครงการวิจัยอื่นๆที่กำลังดำเนินการวิจัย

| ลำดับที่ | ผู้วิจัยหลัก | หัวข้อเรื่อง | แหล่งทุน | ปีที่ได้-ปีที่เสร็จ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | นายไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ | การแยกและเลี้ยง zooxanthellae สายพันธุ์ทนร้อนจากปะการังและหอยสองฝา(อพ.สธ-จพ.) | คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ | 2555-ปัจจุบัน (สัญญาปีต่อปี) |
| 2 | นายไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ | การวิจัยเพื่อสำรวจ คัดเลือก และเพาะเลี้ยงสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพทางด้านพลังงาน | บริษัทล็อกซเล่ย์ | 2555-2556 |
| 3 | นายไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ | การจัดตั้งเครือข่ายการวิจัยและการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์ทางทะเลชายฝั่งในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ | คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ | 2555-ปัจจุบัน (สัญญาปีต่อปี) |

งานประจำในช่วงที่จะทำงานวิจัยโดยประมาณ

ทำการสอนหนังสือและวิจัยที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาฯ

แหล่งทุนอื่นที่ผู้วิจัยได้ส่งข้อเสนอโครงการวิจัยนี้ไปขอรับการสนับสนุน

☑ ไม่มี ☐ มี(โปรดระบุ).....

ขอรับรองว่าข้อความที่ให้ไว้เป็นความจริงทุกประการ

(ลงชื่อ).....ผู้วิจัย

(รศ.ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ)

วันที่.....

**ผู้ร่วมวิจัย** **รองศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิยกาญจน์**

1. ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) นายวรณพ วิยกาญจน์
   (ภาษาอังกฤษ) Mr. Voranop VIYAKARN
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-1006-00710-52-5
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ดร. (ระดับเชี่ยวชาญ)
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก
   กลุ่มการวิจัยชีววิทยาแนวปะการัง ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์
   จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   254 ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
   โทรศัพท์มือถือ : 086 610 1610
   โทรศัพท์/โทรสาร : 02 218 5387 (กลุ่มวิจัยฯ)
   E-mail : voranop.v@chula.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

| | | |
|---|---|---|
| 2531: | B.Fish.Sc. (Fishing Tech. Eng.) | Tokyo University of Fisheries, JAPAN |
| 2533: | M.Fish.Sc. (Aqua. Biosci.) | Tokyo University of Fisheries, JAPAN |
| 2536: | Ph.D. (Fish. Sci.) | Tokyo University of Fisheries, JAPAN |

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)
   นิเวศวิทยาทางทะเล เพาะขยายพันธุ์ปะการัง โภชนศาสตร์และเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ
   7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย
   1) ความหลากหลายของปะการังและสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง หมู่เกาะทะเลไทย โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองทัพเรือ (2544–2552)
   2) การลงเกาะของตัวอ่อนปะการังเพื่อการฟื้นฟูแนวปะการังธรรมชาติ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองทัพเรือ (2546–2552)
   3) ชีววิทยาเบื้องต้นของกัลปังหา โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และหน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองทัพเรือ (2546–2552)
   4) การศึกษาและกำหนดดัชนีคุณภาพสิ่งแวดล้อมของพื้นที่พิเศษเพื่อการท่องเที่ยวที่ยั่งยืน หมู่เกาะช้างและพื้นที่เชื่อมโยง ระยะที่ 2 – ทรัพยากรปะการัง องค์การบริหารการพัฒนาพื้นที่พิเศษเพื่อการท่องเที่ยวอย่างยั่งยืน (2549–2550)
   5) ความหลากหลายและการกระจายของกัลปังหาบริเวณอุทยานแห่งชาติหาดขนอม – หมู่เกาะทะเลใต้ จังหวัดนครศรีธรรมราช โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (2549–2550)

6) การเพาะเลี้ยงปะการังเขากวาง *Acropora* spp. โดยการผสมเทียมในระบบเลี้ยงบนบกเพื่อการฟื้นฟูแนวปะการัง ศูนย์ส่งเสริมการวิจัยในภูมิภาคเอเชียของมูลนิธิเกาหลีเพื่อการศึกษาขั้นสูง ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2550–2551)
7) สิ่งที่ชีวิตที่อาศัยอยู่ร่วมกันในแหล่งหญ้าทะเล เกาะท่าไร่ จังหวัดนครศรีธรรมราช โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (2551–2552)
8) สิ่งที่ชีวิตที่อาศัยอยู่ร่วมกับกัลปังหาบริเวณหมู่เกาะทะเลใต้ จังหวัดสุราษฎร์ธานีและนครศรีธรรมราช โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (2551–2552)
9) ความหลากหลายของปะการังและความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตในแนวปะการัง บริเวณหมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ–จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2553)
10) ความหลากหลายของปะการังและความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตในแนวปะการังบริเวณหมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี : 2- การทดแทนจำนวนประชากรปะการัง โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ–จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2554)
11) การเติบโตและอัตรารอดในแนวปะการังธรรมชาติของปะการังที่ได้จากการผสมเทียมในระบบเลี้ยงบนบก โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ–จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2554)
12) Transplantation of coral larvae settlement in the upper Gulf of Thailand. Project AWARE Foundation, AUSTRALIA (2549)
13) Culture of staghorn coral *Acropora* spp. on land-based rearing system as a tool for coral restoration and conservation. Project AWARE Foundation, AUSTRALIA (2551)

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1) ชโลทร รักษาทรัพย์ **วรณพ วิยกาญจน์** และ สุชนา ชวนิชย์. 2550. การเพาะขยายพันธุ์ปะการังและการฟื้นฟูแนวปะการังด้วยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ–1: ฤดูกาลปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของปะการังแข็งบางชนิดบริเวณหมู่เกาะแสมสาร จังหวัด ชลบุรี. เอกสารประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : ประโยชน์แท้แก่มหาชน. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 3 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ., 31 ตุลาคม – 2 พฤศจิกายน 2550, พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี. หน้า 127-134.
2) ปฐพร เกื้อนุ้ย สุชนา ชวนิชย์ ชโลทร รักษาทรัพย์ และ **วรณพ วิยกาญจน์**. 2550. การเพาะขยายพันธุ์ปะการังและการฟื้นฟูแนวปะการังด้วยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ – 2: ช่วงเวลาการปล่อยตัวอ่อนปะการังดอกกระหล่ำ *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758) บริเวณหมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. เอกสารประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ประโยชน์แท้แก่มหาชน. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 3 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ., 31 ตุลาคม – 2 พฤศจิกายน 2550, พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี. หน้า 135-140.
3) กมลพันธ์ ลักษณา **วรณพ วิยกาญจน์** และ สุชนา ชวนิชย์. 2550. สิ่งมีชีวิตในแนวปะการังบริเวณหมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี - 5 : ความสัมพันธ์ระหว่างรูปทรงปะการังที่ใช้

เป็นถิ่นอาศัยกับชนิดปลา. เอกสารประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ประโยชน์แท้แก่มหาชน. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 3 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ., 31 ตุลาคม – 2 พฤศจิกายน 2550, พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี. หน้า 141-148.

4) ชโลทร รักษาทรัพย์ **วรณพ วิยกาญจน์** และ สุชนา ชวนิชย์. 2552. การเพาะขยายพันธุ์ปะการังและการฟื้นฟูแนวปะการังด้วยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ–3 : การปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของปะการังเขากวาง *Acropora* spp. บริเวณหมู่เกาะแสมสารและลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ระยะก่อนและหลังการปล่อยออกสู่มวลน้ำ. เอกสารประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ผันสู่วิถีใหม่ในฐานไทย. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 4 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. 20 – 22 ตุลาคม 2552. สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จังหวัดชลบุรี. หน้า 202-210.
5) ปฐพร เกื้อนุ้ย สุชนา ชวนิชย์ และ **วรณพ วิยกาญจน์**. 2552. การเพาะขยายพันธุ์ปะการังและการฟื้นฟูแนวปะการังด้วยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ – 4: อัตราการปล่อยและพัฒนาการของตัวอ่อนปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758) บริเวณหมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. เอกสารประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ผันสู่วิถีใหม่ในฐานไทย. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 4 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. 20 – 22 ตุลาคม 2552. สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จังหวัดชลบุรี. หน้า 211-218.
6) เครือวัลย์ กำเนิดดี **วรณพ วิยกาญจน์** และ สุชนา ชวนิชย์. 2552. ความหลากหลายของสาหร่ายอิงอาศัยบนหญ้าชะเงา *Enhalus acoroides* บริเวณแนวหญ้าทะเลเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี. เอกสารประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ผันสู่วิถีใหม่ในฐานไทย. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 4 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. 20 – 22 ตุลาคม 2552. สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จังหวัดชลบุรี. หน้า 532-537.
7) สุชนา ชวนิชย์ และ **วรณพ วิยกาญจน์**. 2554. การฟื้นฟูปะการังบริเวณหมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี. เอกสารประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 5 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. 3 – 5 พฤศจิกายน 2554. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ศูนย์ฝึกหนองระเวียง จังหวัดนครราชสีมา.
8) Chavanich S, Ketdecha N, **Viyakarn V** and Bussarawit S. 2007. Preliminary surveys of the commensal amphipod, *Leucothoe spinicarpa* (Ablidgaard, 1789), in the colonial tunicate, *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891, in the Andaman Sea, Thailand. Publications of the Seto Marine Biological Laboratory, Special Publication Series 8: 97-101.
9) Chavanich S, **Viyakarn V**, Sojisuporn P, Siripong A, and Menasveta P. 2008. Patterns of coral damage associated with the 2004 Indian Ocean Tsunami at Mu Ko Similan Marine National Park, Thailand. Journal of Natural History 42: 177-187.
10) **Viyakarn V**, Chavanich S, Raksasab C and Loyjiw T. 2009. New coral community on the breakwater in Thailand. Coral Reefs 28: 427.
11) Chavanich S, **Viyakarn V**, Loyjiw T, Pattaratamrong P and Chankong A. 2009. Mass bleaching of soft coral, *Sarcophyton* spp. in Thailand and the role of temperature and salinity stress. ICES Journal of Marine Scienc. 66: 1515-1519.

12) Chavanich S, **Viyakarn V**, Piyatiratitivorakul S, Suwanborirux K and Bussarawit S. 2009. Two introduced tunicate species, *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 and *Clavelina cyclus* Tokioka & Nishikawa, 1975, in Thailand. Aquatic Invasions 4: 349-351.

13) Loyjiw T, **Viyakarn V** and Chavanich S. 2009. Diversity of gorgonians and influence of cutting on their growth in the upper Gulf of Thailand. Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium, 7–11 July 2008, Ft. Lauderdale, Florida. pp. 1367-1369.

14) Kuanui P, Chavanich S, Raksasab C and **Viyakarn V**. 2009. Lunar periodicity of larval release and larval development of *Pocillopora damicornis* in Thailand. Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium, 7–11 July 2008, Ft. Lauderdale, Florida. pp. 382-384.

15) Senanan W, Panutrakul S, Barnette P, Chavanich S, Mantachitr V, Tangkrock-Olan N and **Viyakarn V**. 2009. Preliminary risk assessment of Pacific whiteleg shrimp *(P. vannamei)* introduced to Thailand for aquaculture. Aquaculture Asia Magazine 14: 28-32.

16) Chavanich S, **Viyakarn V** and Park HS. 2010. Amphipods associated with *Codium* species in Korea. Crustaceana 83: 795-807.

17) Senanan W, Panutrakul S, Barnette P, Manthachitra V, Chavanich S, Kapuscinski AR, Tangkrock-Olan N, Intacharoen P, **Viyakarn V**, Wongwiwatanawute C and Padetpai K. 2010. Ecological risk assessment of an alien aquatic species: a case study of *Litopenaeus vannamei* (Pacific whiteleg shrimp) aquaculture in the Bangpakong River, Thailand. In: Hoanh CT, Zsuster BW, Suan-Pheng K, Ismail AM and Noble AD (eds), Tropical Deltas and Coastal Zones: Food Production, Communities and Environment at the Land-Water Interface. CABI Publishing, pp. 64-79.

18) Panutrakul S, Senanan W, Chavanich S, Tangkrock-Olan N and **Viyakarn V**. 2010. Ability of *Litopenaeus. vannamei* to survive and compete with local marine shrimp species in the Bangpakong River, Thailand. In: Hoanh CT, Zsuster BW, Suan-Pheng K, Ismail AM and Noble AD (eds), Tropical Deltas and Coastal Zones: Food Production, Communities and Environment at the Land-Water Interface. CABI Publishing, pp. 80-92.

19) Chavanich S, **Viyakarn V**, Adams P, Klammer J and Cook N. 2012. Reef communities after the 2010 mass coral bleaching at Racha Yai Island in the Andaman Sea and Koh Tao in the Gulf of Thailand. Phuket Marine Biological Center Research Bulletin 71: 103-110.

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ

1) ความเชื่อมโยงของภาวะโลกร้อนบริเวณระบบนิเวศชายฝั่งทวีปแอนตาร์กติกที่มีต่อเขตร้อน (หัวหน้าโครงการ) สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา–โครงการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (2554–2556) สัดส่วนงานที่ลุล่วง: ร้อยละ 70 (ปีที่ 2)
2) ผลกระทบของภาวะโลกร้อนที่มีต่อระบบนิเวศปะการังและการฟื้นฟูแนวปะการัง (ผู้ร่วมวิจัย) สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา–โครงการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (2554–2556) สัดส่วนงานที่ลุล่วง: ร้อยละ 70 (ปีที่ 2)
3) กระบวนการของกระแสน้ำที่มีผลต่อการแพร่กระจายของตัวอ่อนปะการัง (ผู้ร่วมวิจัย) โครงการ A1B1 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2554–2555) สัดส่วนงานที่ลุล่วง: ร้อยละ 80 (ปีที่ 2)
4) การเพาะขยายพันธุ์ปะการังในระบบเลี้ยงเพื่อการฟื้นฟูแนวปะการัง (ผู้ร่วมวิจัย) โครงการไทยเข้มแข็ง 2 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2554–2556) สัดส่วนงานที่ลุล่วง: ร้อยละ 80 (ปีที่ 2)
5) การฟื้นฟูแนวปะการังในธรรมชาติโดยใช้ตัวอ่อนปะการังที่ได้จากการเพาะขยายพันธุ์ในระบบเพาะฟัก – 1: ปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการอนุบาลตัวอ่อนปะการังระยะหลังการปฏิสนธิและระยะหลังการลงเกาะในระบบอนุบาล (หัวหน้าโครงการ) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ: โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ–จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2555) สัดส่วนงานที่ลุล่วง: ร้อยละ 75
6) บทบาทและความสำคัญของทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบนิเวศ – 1: ฤดูกาลสืบพันธุ์และจำนวนประชากรในพื้นที่หมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี (ผู้ร่วมวิจัย) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ: โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ–จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2555) สัดส่วนงานที่ลุล่วง: ร้อยละ 70