รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลกระทบของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมต่อชนิดและความหลากหลายของสาหร่ายซูแซนเทลลี่ (*Symbiodinium* spp.) ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชทางทะเล หมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี (สนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี)

ทรรศิน ปณิธานะรักษ์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน สนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช
อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.))
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ อพ.สธ. 3/2557
สัญญาเลขที่ อพ.สธ. 3/2557

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการ ผลกระทบของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมต่อชนิดและความหลากหลาย ของสาหร่ายซูแซนเทลลี่ (*Symbiodinium* spp.) ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อน ในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชทางทะเล หมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี (สนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี)

ทรรศิน ปณิธานะรักษ์
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

กันยายน 2558

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน สนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา อพ.สธ. 3/2557

บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศในปัจจุบันส่งผลกระทบต่อความเสียหายของทรัพยากรชีวภาพในระบบนิเวศแนวปะการัง การวางแผนจัดการอนุรักษ์และฟื้นฟูแนวปะการังต้องอาศัยความรู้ความเข้าใจ รวมถึงการตรวจสอบและติดตามการตอบสนองของปะการังต่อปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อสภาพความสมบูรณ์ของแนวปะการัง ปะการังแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิด หรือ clade ของสาหร่ายซูแซนเทลลี่ (zooxanthellae) สกุล *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการัง การศึกษานี้เป็นการสำรวจภาคสนามถึงการตอบสนองของสาหร่าย *Symbiodinium* แต่ละ clade ต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ในระยะเวลา 1 ปี การตรวจสอบ clade และความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ในปะการังอ่อนเจ้าบ้านใช้การวิเคราะห์ความผันแปรของยีน ribosomal large subunit 23S Domain V ในคลอโรพลาสต์ จากตัวอย่างปะการังอ่อนสกุล *Sinularia, Lobophytum, Sarcophyton* และ *Cladiella* จำนวน 59 ตัวอย่าง ซึ่งได้จากการเก็บตัวอย่างบริเวณเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก และแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ใน 3 ฤดู ในรอบ 1 ปี คือ ฤดูหนาว (มกราคม พ.ศ. 2557) ฤดูร้อน (มีนาคม พ.ศ. 2557) และฤดูฝน (พฤษภาคม พ.ศ. 2557) ผลการศึกษาไม่พบการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของ clade ในประชากรสาหร่าย *Symbiodinium* ตามการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่ผันแปรตามฤดูกาล ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ปะการังอ่อนเจ้าบ้านส่วนใหญ่ที่สำรวจพบ คือ สกุล *Cladiella* ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงต่อสาหร่าย *Symbiodinium* clade D เพียงกลุ่มเดียว

Abstract

Climate change nowadays causes uncountable severe impact on natural resources including reef dwellers in most coral reef ecosystem. Coral reef conservation and restoration plans require basic knowledge of coral health in response to environmental changes overtime. Different species of corals response to environmental factors in different ways depended on clades of zooxanthellae (genus *Symbiodinium*) reside within the coral tissue. This study was the field observation of changes in *Symbiodinium* communities influenced by environmental factors variation throughout the year. Phylogenetic clades and diversity of *Symbiodinium* inhabiting soft coral hosts were investigated using the analysis of chloroplast gene sequence variation at the ribosomal large subunit 23S Domain V. Fifty nine soft coral samples of genera *Sinularia, Lobophytum, Sarcophyton* and *Cladiella* were collected from the west of Jorake Island and Japanese Point, Juang Island, Sattahip, Chonburi Province during 3 various seasons in the year 2014, including the winter (January 2014), summer (March 2014) and rainy season (May 2014). The results revealed no changes of clades in *Symbiodinium* community in response to environmental factors variation following seasonal fluctuation. This could possibly explain by the abundance of soft corals in the genus *Cladiella* which were specific to a single *Symbiodinium* clade D.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อ	iii
สารบัญ	v
สารบัญตาราง	vi
สารบัญภาพ	vii
บทนำ	8
การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง	10
วิธีดำเนินการวิจัย	12
ผลการวิจัย	15
วิเคราะห์ผลการวิจัย	21
สรุปผลการวิจัย	23
เอกสารอ้างอิง	24

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตารางสรุปจำนวนตัวอย่างปะการังอ่อนแต่ละสกุลที่ได้ทำการศึกษา	13
2	ข้อมูลปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมเกาะจวงและเกาะจระเข้ในฤดูหนาว ร้อน และฝนปี 2557	20

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนที่แสดงตำแหน่งของเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก และแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง	12
2	ตัวอย่างปะการังอ่อนจากแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง ตัวแทนของประชากรในฤดูหนาว	15
3	ตัวอย่างปะการังอ่อนจากเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก ตัวแทนของประชากรในฤดูหนาว	16
4	ตัวอย่างปะการังอ่อนจากเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก ตัวแทนของประชากรในฤดูร้อน	16
5	ตัวอย่างปะการังอ่อนจากแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง ตัวแทนของประชากรในฤดูฝน	17
6	ตัวอย่างปะการังอ่อนจากเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก ตัวแทนของประชากรในฤดูร้อน	17
7	การเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอบริเวณยีน cp23S rDNA	18
8	การเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมบริเวณ cp23S rDNA กับข้อมูลใน GenBank	19

บทนำ

ในศตวรรษที่ผ่านมาสภาพภูมิอากาศของโลกมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากมาย เกิดพายุฝนและความแห้งแล้งผิดฤดูกาล อีกทั้งยังทวีความรุนแรงและเกิดขึ้นบ่อยในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา ส่งผลกระทบมากมายต่อชีวิตและทรัพย์สินของมนุษย์ การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศยังส่งผลกระทบต่อความเสียหายของทรัพยากรชีวภาพ ซึ่งรวมถึงทรัพยากรชีวภาพในระบบนิเวศแนวปะการัง จากการรายงานพบว่า ประมาณ 30% ของแนวปะการังทั่วโลกได้ถูกทำลายลงไปและมีแนวโน้มว่าจะมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ (Hughes et al. 2003) การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศซึ่งทำให้อุณหภูมิผิวน้ำทะเล (sea surface temperatures, SSTs) มีค่าสูงขึ้นอย่างผิดปกติ ยังเป็นสาเหตุหลักของการเกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว หรือการที่ปะการังขับเอาสาหร่ายซูแซนเทลลี่ (zooxanthellae) (dinoflagellate สกุล *Symbiodinium*) ซึ่งเป็นตัวผลิตก๊าซออกซิเจนและสารอาหารส่วนใหญ่ให้กับปะการังออกมา ทำให้ปะการังอ่อนแอเพราะได้รับสารอาหารไม่เพียงพอและอาจตายไปในที่สุด ในปัจจุบัน การฟอกขาวของปะการังในภูมิภาคต่าง ๆ ทั่วโลกรวมทั้งในประเทศไทย มีแนวโน้มที่จะเกิดขึ้นบ่อยครั้งและทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น ปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวในประเทศไทยครั้งล่าสุดเกิดขึ้นเมื่อเดือนเมษายน พ.ศ. 2553 ซึ่งส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อแนวปะการังในฝั่งทะเลอันดามันและอ่าวไทย จากการสำรวจโดยสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเลและป่าชายเลน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง และสถาบันอุดมศึกษาต่าง ๆ พบการฟอกขาวบริเวณแนวปะการังในทุกจังหวัดทางฝั่งทะเลอันดามันมากกว่า 70% ของปะการังที่มีชีวิตอยู่ ส่วนบริเวณแนวปะการังฝั่งอ่าวไทย พบการฟอกขาวบริเวณ เกาะกูด หมู่เกาะช้าง หมู่เกาะมัน หมู่เกาะแสมสารและเกาะข้างเคียง โดยมีความรุนแรงของการฟอกขาวต่ำกว่าบริเวณฝั่งทะเลอันดามัน ผลการสำรวจหลังการฟอกขาวในเดือนกรกฎาคม 2553 พบว่าแนวปะการังได้รับความเสียหายจากการฟอกขาวในระดับที่แตกต่างกันไปขึ้นกับสถานที่ ผลกระทบจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม และการรบกวนของมนุษย์ ในภาพรวมแนวปะการังทางฝั่งทะเลอันดามัน มีการตายจากการฟอกขาวในปี 2553 ประมาณ 50-60% และอ่าวไทยประมาณ 30-40% ของปะการังที่มีชีวิตทั้งหมด (คณะกรรมการแก้ไขปัญหาผลกระทบของการฟอกขาวต่อสถานภาพปะการัง 2553)

การวางแผนจัดการอนุรักษ์และฟื้นฟูแนวปะการังต้องอาศัยความรู้ความเข้าใจ รวมถึงการตรวจสอบและติดตามการตอบสนองของปะการังต่อปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อสภาพความสมบูรณ์ของแนวปะการัง เช่น อุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเล ตะกอนสารแขวนลอย เป็นต้น ปะการังแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมทางกายภาพเหล่านี้แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิด หรือ phylogenetic clade ของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการัง โดยสาหร่าย *Symbiodinium* แต่ละชนิดมีความทนทานต่อปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น สาหร่าย *Symbiodinium* ใน clade D มีความทนทานต่ออุณหภูมิสูง ทำให้ปะการังที่เป็นเจ้าบ้านมีการปรับตัวให้อยู่รอดในภาวะที่อุณหภูมิผิวน้ำทะเลมีค่าสูงกว่าปกติ (Rowan 2004, Berkelmans and van Oppen 2006) โดยภาพรวม ประเทศไทยยังขาดข้อมูลของชนิดและความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ดังนั้นความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับชนิด ความหลากหลาย และการตอบสนองของสาหร่าย *Symbiodinium* แต่ละชนิดต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำทะเลและปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ในระยะยาวจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการวางแผนจัดการอนุรักษ์และฟื้นฟูแนวปะการังจากผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ

การวิจัยนี้มีเป้าหมายในการตรวจสอบ clade และความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนบางสกุล (เช่น *Sinularia*, *Lobophytum*, *Sarcophyton* และ *Cladiella*) ซึ่งพบทั่วไปในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชทางทะเล หมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี รวมถึงติดตามการตอบสนองของสาหร่าย *Symbiodinium* ต่อปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเล ในรอบ 1 ปี พื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชทางทะเลหมู่เกาะแสมสาร เหมาะสมเป็นพื้นที่ศึกษาวิจัยในระยะยาวเนื่องจากเป็นบริเวณพื้นที่พัฒนาให้เป็นแหล่งอนุรักษ์ทรัพยากรชีวภาพโดยอยู่ในความรับผิดชอบของกองทัพเรือ มหาวิทยาลัยบูรพาเป็นหนึ่งในหน่วยงานที่เข้าร่วมสนองพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ผู้ดำเนินการวิจัยจากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา เป็นหนึ่งในคณะปฏิบัติการวิทยาการซึ่งทำหน้าที่ในการสำรวจทรัพยากรชีวภาพตามพระราชวินิจฉัยที่ทรงพระราชทานไว้ในการเรียนรู้ตั้งแต่ยอดเขาจดถึงใต้ทะเล ได้ดำเนินการวิจัยนี้เพื่อเข้าร่วมสนองพระราชดำริในการสำรวจ อนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากทรัพยากรชีวภาพอย่างยั่งยืนต่อไป

การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ซูแซนเทลลี่ (zooxanthellae) เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวในกลุ่ม dinoflagellates จัดอยู่ในสกุล *Symbiodinium* ซึ่งประกอบด้วยสาหร่ายหลายชนิดด้วยกัน ในปัจจุบัน แบ่งออกเป็น 9 ชนิด หรือ phylogenetic clade ตามความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (clades A ถึง I, Pochon and Gates 2010) ชนิดหรือ clade ของสาหร่าย *Symbiodinium* จำแนกตามการวิเคราะห์ความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรมของยีนในนิวเคลียสที่ทำหน้าที่ถอดรหัสในการสังเคราะห์ ribosomal RNA (Baker 2003) และยีนในคลอโรพลาสต์ที่ทำหน้าที่ถอดรหัสการสังเคราะห์ ribosomal large subunit 23S Domain V (Santos et al. 2002) สาหร่าย *Symbiodinium* มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัย (mutualistic symbiosis) กับเจ้าบ้านซึ่งเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเลหลายกลุ่มด้วยกัน เช่น ฟองน้ำ ปะการังและดอกไม้ทะเล หอยและหมึก เป็นต้น ในปะการัง สาหร่าย *Symbiodinium* อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อของปะการังเจ้าบ้าน ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และธาตุอาหารต่าง ๆ ที่ได้จากกระบวนการเมตาโบลิซึมของปะการังในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ ในขณะที่ปะการังจะได้รับก๊าซออกซิเจนและสารอาหารส่วนใหญ่ที่เป็นผลผลิตจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ส่งผลให้การเจริญเติบโตและการรอดตายของปะการังเจ้าบ้านขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายที่อาศัยอยู่ร่วมกัน จากการรายงานพบว่าปะการังมีความยืดหยุ่นต่อการอยู่ร่วมกับสาหร่าย *Symbiodinium* ได้ 6 ชนิด จากทั้งหมด 9 ชนิด (Pochon and Gates 2010) โดยสาหร่ายแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อความผันแปรของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมแตกต่างกันไป

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพที่มีผลกระทบต่อองค์ประกอบของชนิด ความหลากหลายและการแพร่กระจายของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่สำคัญและมีการศึกษาวิจัยกันมาก ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำทะเล (Baker et al. 2004, Mostafavi et al. 2007, Oliver and Palumbi 2009) การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิน้ำทะเลมากกว่าปกติ เป็นระยะเวลานานต่อเนื่องกันยังเป็นสาเหตุหลักของการเกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว หรือ การที่ปะการังเกิดความเครียดเพราะสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต ปะการังจึงขับเอาสาหร่าย *Symbiodinium* ออกจากเซลล์ ทำให้มีสีซีดลงหรือกลายเป็นสีขาว และหากปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นเป็นระยะเวลานานติดต่อกัน จะส่งผลให้ปะการังอ่อนแอเพราะได้รับสารอาหารไม่เพียงพอและอาจตายในที่สุด การฟอกขาวก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* โดยสาหร่ายที่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำทะเลสูงจะมีสัดส่วนมากขึ้น หรือพบเป็นชนิดเด่นหลังจากการเกิดการฟอกขาว เช่น สาหร่าย *Symbiodinium* clade D (Baker et al. 2004, Jones et al. 2008, LaJeunesse et al. 2009) นอกจากนี้ ปัจจัยร่วมอื่น ๆ เช่น ความขุ่น-ใสของน้ำทะเล (ตะกอนสารแขวนลอย) สภาพแหล่งที่อยู่ของปะการังเจ้าบ้าน (เช่น แนวปะการังชายฝั่งและไกลฝั่ง) ยังอาจส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของชนิดและความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ในปะการังเจ้าบ้านได้ (Toller et al. 2001, Garren et al. 2006, LaJeunesse et al. 2010a)

ปะการังอ่อนมีความสัมพันธ์กับสาหร่าย *Symbiodinium* แบบพึ่งพาอาศัยเช่นเดียวกับปะการังแข็ง แต่มีรายงานการศึกษาวิจัยน้อยกว่าในปะการังแข็งมาก จากการทบทวนเอกสารงานวิจัยส่วนใหญ่จะเน้นการสำรวจชนิดและความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ในปะการังอ่อนที่พบบริเวณ Great Barrier Reef ประเทศออสเตรเลีย และทะเล Carribbean เช่น การสำรวจความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อน 7 ชนิด จาก 4

วงศ์ บริเวณเกาะ Heron ทางตอนใต้ของ Great Barrier Reef (LaJeunesse et al. 2003) และการตรวจสอบความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ในปะการังอ่อน 114 ชนิด จาก 69 สกุล (20 วงศ์) จากบริเวณ Great Barrier Reef มหาสมุทรแปซิฟิกฝั่งตะวันออก และทะเล Carribbean (van Oppen et al. 2005) ในประเทศไทย ข้อมูลเกี่ยวกับชนิดและความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* มีอยู่น้อยมาก บริเวณทะเลอันดามันมีรายงานการศึกษาโดย LaJeunesse et al. (2010a) ที่สำรวจความหลากหลายของชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* ซึ่งอาศัยอยู่ร่วมกับปะการังเจ้าบ้านหลายชนิดในบริเวณแนวปะการังชายฝั่ง (แหลมพันวาและเกาะเฮ) และแนวปะการังไกลฝั่ง (เกาะพีพีดอน เกาะพีพีเล เกาะราชา และหมู่เกาะสิมิลัน) ของทะเลอันดามัน ผลการศึกษาพบว่า *Symbiodinium* clade D เป็นชนิดที่พบมากและพบได้ทั่วไป ในบริเวณแนวปะการังชายฝั่งซึ่งมีอุณหภูมิน้ำทะเลสูงกว่าและมีตะกอนสารแขวนลอยมากกว่าบริเวณแนวปะการังไกลฝั่ง ส่วนบริเวณอ่าวไทย มีการศึกษาชนิดและความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ในปะการังอ่อนสกุล *Sinularia* ที่พบบริเวณแนวปะการังชายฝั่งของเกาะจระเข้ และแนวปะการังไกลฝั่งของหมู่เกาะจวง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ผลการศึกษาสอดคล้องกับรายงานการศึกษาจากบริเวณทะเลอันดามัน โดยพบสาหร่าย *Symbiodinium* clade D เป็นชนิดเด่นในแนวปะการังชายฝั่ง (Panithanarak 2012) การศึกษาความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันระหว่างสาหร่าย *Symbiodinium* กับปะการังเจ้าบ้าน มีเพียงส่วนน้อยที่ทำการศึกษาวิจัยและติดตามการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของชนิดและความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ในปะการังเจ้าบ้านอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ตัวอย่าง เช่น การสำรวจชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* หลังจากปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวและตรวจพบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของชนิดของสาหร่าย (Thornhill et al. 2006) การศึกษาผลกระทบของรูปแบบการได้รับสาหร่าย *Symbiodinium* ต่อความสัมพันธ์ระหว่างสาหร่ายกับปะการังเจ้าบ้านในบริเวณตอนใต้ของ Great Barrier Reef (Stat et al. 2008) การศึกษาโดย Sampayo et al. (2008) เพื่อตรวจสอบและติดตามสาหร่าย *Symbiodinium* ในปะการัง *Stylophora pistillata* ต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 2 ปี และพบว่าความผันแปรของสาหร่าย *Symbiodinium* clade C ในระดับ subclade มีผลต่อความอ่อนแอของปะการังจากการฟอกขาว และล่าสุด LaJeunesse et al. (2010b) ศึกษาความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยระหว่างปะการังแข็ง *Pocillopora* spp. และสาหร่าย *Symbiodinium* บริเวณสถานีศึกษาของอ่าวแคลิฟอร์เนียทางตอนใต้ โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* อย่างต่อเนื่อง หลังจากปะการังเริ่มฟื้นตัวจากการเกิดการฟอกขาว พบว่าปะการังที่ได้รับผลกระทบอย่างมากจากการฟอกขาวคือปะการังที่มีสาหร่าย *Symbiodinium* clade C ส่วนปะการังที่มีสาหร่าย *Symbiodinium* clade D แทบจะไม่ได้รับผลกระทบจากการฟอกขาวเลย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาตัวอย่าง

ตัวอย่างสาหร่าย *Symbiodinium* ที่เก็บมาตรวจสอบชนิดและความหลากหลายเป็นสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้านบางสกุลซึ่งพบทั่วไปในบริเวณพื้นที่ศึกษา ได้แก่ สกุล *Sinularia*, *Lobophytum*, *Sarcophyton* และ *Cladiella*

การเก็บตัวอย่างปะการังอ่อนทำโดยการดำน้ำแบบการใช้เครื่องช่วยหายใจใต้น้ำ (SCUBA diving) จากบริเวณแนวปะการังที่เป็นสถานีศึกษา บริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง ของหมู่เกาะแสมสาร และฝั่งตะวันตกของเกาะจระเข้ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี (ภาพที่ 1) ในแต่ละสถานีมีการบันทึกข้อมูลของสถานที่เก็บตัวอย่าง และบันทึกข้อมูลของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ค่าการละลายของออกซิเจนในน้ำทะเล ความลึก ความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล จำแนกสกุลของปะการังอ่อนที่เก็บมาศึกษา ตัวอย่างปะการังอ่อนที่เก็บได้จากการตัดชิ้นส่วนของกิ่ง (lobe) ของแต่ละโคโลนีประมาณ 1-2 ชิ้น ขนาดประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร แล้วนำไปเก็บรักษาใน absolute ethanol เพื่อการตรวจสอบชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* ในขั้นตอนต่อไป

ภาพที่ 1 แผนที่แสดงตำแหน่งของเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก และแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นบริเวณที่เก็บตัวอย่างปะการังอ่อน ดัดแปลงมาจากแผนที่โดย Panithanarak (2015)

เก็บตัวอย่างปะการังอ่อนซ้ำ โดยในรอบ 1 ปี เก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง คือ ในฤดูหนาว (25-26 มกราคม 2557) ฤดูร้อน (23 มีนาคม 2557) และฤดูฝน (24 พฤษภาคม 2557) เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของชนิดและความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* เปรียบเทียบกับปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ข้อมูลของตัวอย่างปะการังอ่อนที่เก็บได้จากการสำรวจทั้งสามครั้งโดยสรุปแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตารางสรุปจำนวนตัวอย่างปะการังอ่อนแต่ละสกุลที่ได้ทำการศึกษาในบริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง และเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก ในรอบ 1 ปี

ช่วงเวลา	จำนวนตัวอย่าง							
	เกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก				แหลมญี่ปุ่น เกาะจวง			
	Cladiella	*Lobophytum*	*Sarcophyton*	*Sinularia*	*Cladiella*	*Lobophytum*	*Sarcophyton*	*Sinularia*
ฤดูหนาว	10	1	0	3	2	1	1	1
ฤดูร้อน	9	0	1	0	0	0	0	0
ฤดูฝน	19	0	0	0	10	0	0	1

2. การสกัด เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และการหาลำดับทางพันธุกรรม

สกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อของปะการังอ่อนซึ่งมีสาหร่าย *Symbiodinium* อาศัยอยู่ โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อสัตว์ QIAamp DNA Minikit (Qiagen, Hilden, Germany) และปฏิบัติตามขั้นตอนที่แนบไว้ในชุดสกัดดีเอ็นเอ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของสาหร่าย *Symbiodinium* บริเวณคลอโรพลาสต์ยีนที่ตำแหน่ง ribosomal large subunit 23S Domain V (cp23S rDNA) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความผันแปรทางพันธุกรรมเหมาะสมต่อการจำแนกสาหร่าย *Symbiodinium* ในระดับ clade (Santos et al. 2002) โดยใช้เครื่องหมายพันธุกรรม cp23s1 (forward primer): 5´-GCTGTAACTATAACGGTCC-3´ และ cp23s2 (reverse primer): 5´-CCATCGTATTGAACCCAGC-3´ (Oliver and Palumbi 2011) ปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ดัดแปลงมาจากวิธีการใน Zhang et al. (2000) โดยในแต่ละปฏิกิริยาซึ่งมีปริมาตร 50 µl ประกอบด้วย 0.2 mM dNTP (Promega), 1xPCR Buffer, 50 nmol primer (Macrogen Inc., Korea), 2.0 mM $MgCl_2$, 1.5 unit platinum *Taq* DNA polymerase (Invitrogen) และ 0.1-1 ng/µl template DNA

ขั้นตอนในปฏิกิริยา PCR ดัดแปลงมาจากขั้นตอนใน Zhang et al. (2000) โดยเริ่มจากการแยกสายดีเอ็นเอในช่วงเริ่มต้น (initial denaturation) ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วย 35 รอบของการแยกสายดีเอ็นเอ (denaturation) ที่ 94 °C เป็นเวลา 30 วินาที การจับคู่ระหว่างเครื่องหมายพันธุกรรมกับดีเอ็นเอสายเดี่ยว (annealing) ที่ 55 °C เป็นเวลา 30 วินาที และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (extension) ที่ 72 °C เป็นเวลา 2 นาที ปิดท้ายขั้นตอนด้วยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (final extension) ที่ 72 °C เป็นเวลา 10 นาที

ทำผลผลิตจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (ผลผลิต PCR) ให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุดทำผลผลิต PCR ให้บริสุทธิ์ QIAquick PCR purification kit (Qiagen) โดยปฏิบัติตามขั้นตอนที่แนบไว้ในชุดทำผลผลิต PCR ให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำผลผลิต PCR ที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหาลำดับทางพันธุกรรมด้วยเครื่อง

automated DNA sequencer รุ่น ABI 3730 XL ที่หน่วยวิเคราะห์หาลำดับทางพันธุกรรม บริษัท Macrogen Inc. ประเทศเกาหลี

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

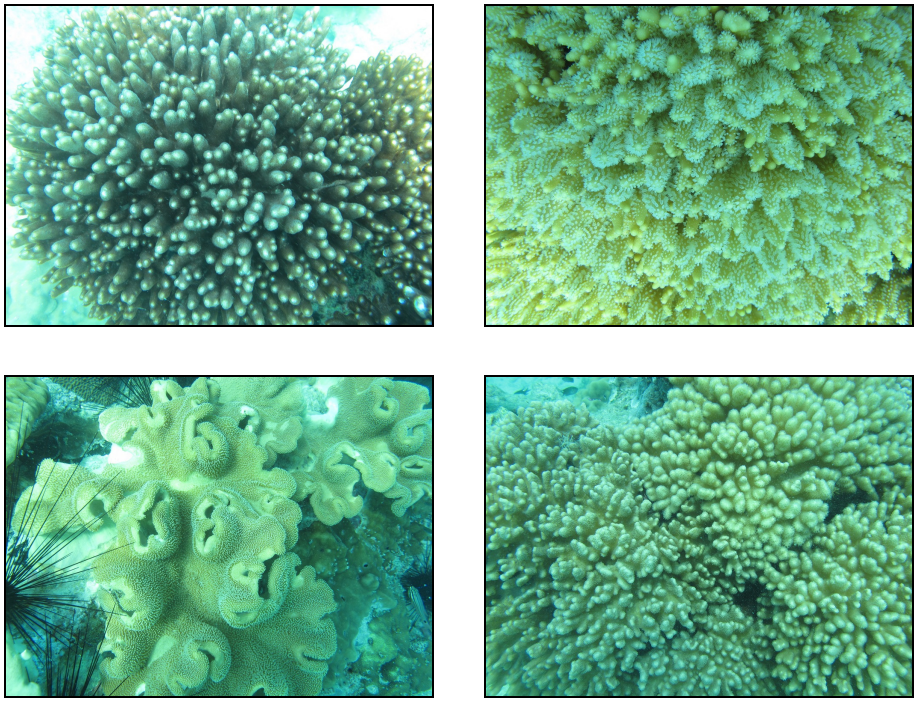
จำแนก clade ของตัวอย่างสาหร่าย *Symbiodinium* โดย 2 วิธีการ วิธีการแรก จำแนกจากการเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอตัวอย่างกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (100bp DNA ladder, Promega) บน 1.5% agarose gel โดยดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง cp23S rDNA ใน *Symbiodinium* ต่าง clade กัน เช่น clade A, C และ D จะแสดงความผันแปรของขนาดของดีเอ็นเอ (Oliver and Palumbi 2011) วิธีการที่สอง จำแนกจากลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่าง โดยเริ่มจากการตรวจสอบลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่างเพื่อยืนยันความถูกต้องของการอ่านค่า นำผลการอ่านค่าลำดับทางพันธุกรรมของแต่ละตัวอย่างจาก forward และ reverse primer มาเปรียบเทียบและรวมกันเป็นเส้นเดียว (sequence assembly) โดยใช้โปรแกรม CAP3 (Huang and Madan 1999, http://pbil.univ-lyon1.fr/cap3.php) จากนั้นจึงเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่างทั้งหมดโดยใช้โปรแกรม Clustal X (Thompson et al. 1997) และจำแนก clade ของตัวอย่างโดยการเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมบริเวณ cp23S rDNA ของสาหร่าย *Symbiodinium* ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTN (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov)

เปรียบเทียบ clade และความหลากหลายในระดับ clade ของสาหร่าย *Symbiodinium* *Symbiodinium* ที่จำแนกได้ในแต่ละครั้ง (ฤดู) พร้อมทั้งหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* กับปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมแต่ละปัจจัย

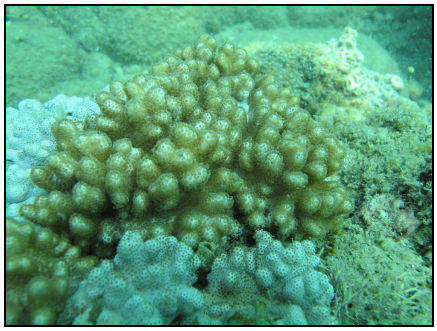
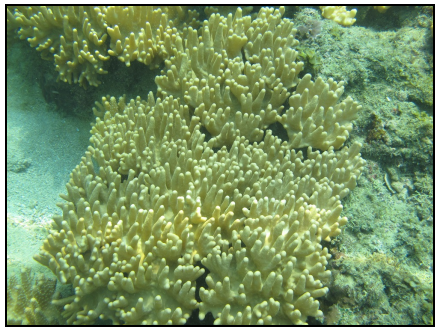
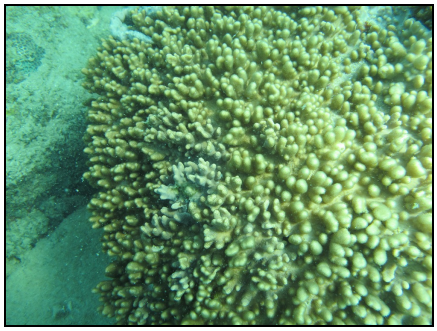
ผลการวิจัย

1. ผลการสำรวจและเก็บตัวอย่างปะการังอ่อน

ผลการสำรวจและเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปะการังอ่อนครั้งที่ 1 ระหว่างวันที่ 25-26 มกราคม 2557 เพื่อเป็นตัวแทนของประชากรในฤดูหนาว จากบริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง และเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก พบปะการังอ่อนอยู่ในสกุล *Sinularia*, *Lobophytum*, *Sarcophyton* และ *Cladiella* บริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง ปะการังอ่อนอยู่กันแบบกระจัดกระจาย โดยปะการังอ่อนที่พบส่วนใหญ่จัดอยู่ในสกุล *Cladiella* ส่วนบริเวณเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตกซึ่งเป็นฝั่งที่รับคลื่นลม พบปะการังอ่อนหลากหลายสกุล ได้แก่ สกุล *Cladiella*, *Lobophytum* และ *Sinularia* ตัวอย่างปะการังอ่อนที่เก็บมาศึกษาจากแต่ละสถานีแสดงในภาพที่ 2 และ 3

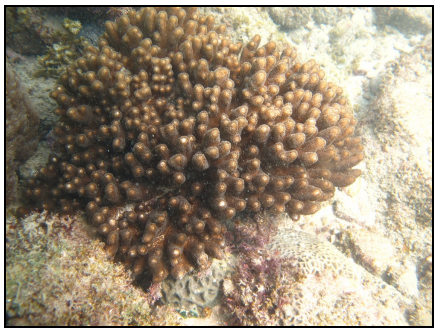


ภาพที่ 2 ตัวอย่างปะการังอ่อนจากบริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง ตัวแทนของประชากรในช่วงฤดูหนาวที่เก็บมาจำแนกชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมด้วย ตัวอย่างปะการังอ่อน ได้แก่ สกุล *Cladiella* (ซ้ายบน) *Lobophytum* (ขวาบน) *Sarcophyton* (ซ้ายล่าง) และ *Sinularia* (ขวาล่าง)

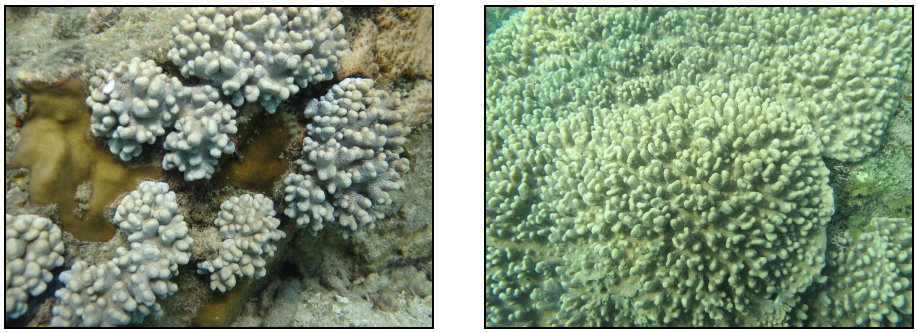
ภาพที่ 3 ตัวอย่างปะการังอ่อนจากบริเวณเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก ตัวแทนของประชากรในช่วงฤดูหนาว ที่เก็บมาจำแนกชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมด้วย ตัวอย่างปะการังอ่อนได้แก่ สกุล *Cladiella* (ซ้ายบน) *Lobophytum* (ขวาบน) และ *Sinularia* (ซ้ายล่าง)

ผลการสำรวจและเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปะการังอ่อนครั้งที่ 2 วันที่ 23 มีนาคม 2557 เพื่อเป็นตัวแทนของประชากรในฤดูร้อน จากเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตกที่เคยพบปะการังอ่อนหลากหลายสกุล แต่ในครั้งนี้เนื่องจากมีอุปสรรคจากคลื่นลมแรง ทำให้การดำน้ำเก็บตัวอย่างได้ลำบาก จึงเก็บตัวอย่างได้จำนวนและความหลากหลายน้อยกว่าการเก็บตัวอย่างครั้งแรก ตัวอย่างที่เก็บได้อยู่ในสกุล *Cladiella* และ *Sarcophyton* (ภาพที่ 4) ส่วนบริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง ไม่สามารถเดินทางออกไปเก็บตัวอย่างได้เนื่องจากมีคลื่นลมแรง จึงยกเว้นการสำรวจในครั้งนี้ไป

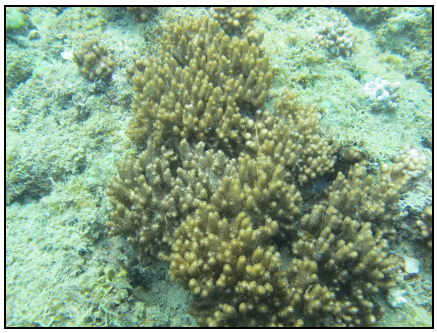


ภาพที่ 4 ตัวอย่างปะการังอ่อนจากบริเวณเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก ตัวแทนของประชากรในช่วงฤดูร้อน ที่เก็บมาจำแนกชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมด้วย ตัวอย่างปะการังอ่อนได้แก่ สกุล *Cladiella* (ซ้าย) และ *Sarcophyton* (ขวา)

ผลการสำรวจและเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปะการังอ่อนครั้งที่ 3 วันที่ 24 พฤษภาคม 2557 เพื่อเป็นตัวแทนของประชากรในฤดูฝน จากทั้ง 2 สถานี ได้แก่ บริเวณเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก และบริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง บริเวณเกาะจระเข้พบเฉพาะปะการังอ่อนในสกุล *Cladiella* ในบริเวณนี้เคยพบปะการังอ่อนหลากหลายสกุล แต่ในครั้งนี้เนื่องจากมีอุปสรรคจากคลื่นลมแรง ทำให้การดำน้ำเก็บตัวอย่างได้ลำบาก จึงเก็บตัวอย่างได้ความหลากหลายน้อยกว่าการเก็บตัวอย่างครั้งแรก ส่วนบริเวณแหลมญี่ปุ่นเกาะจวง ส่วนใหญ่พบปะการังอ่อนในสกุล *Cladiella* ตัวอย่างปะการังอ่อนแสดงในภาพที่ 5 และภาพที่ 6



ภาพที่ 5 ตัวอย่างปะการังอ่อนจากบริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง ตัวแทนของประชากรในช่วงฤดูฝน ที่เก็บมาจำแนกชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมด้วย ตัวอย่างปะการังอ่อน ได้แก่ สกุล *Cladiella* (ซ้าย) และ *Sinularia* (ขวา)

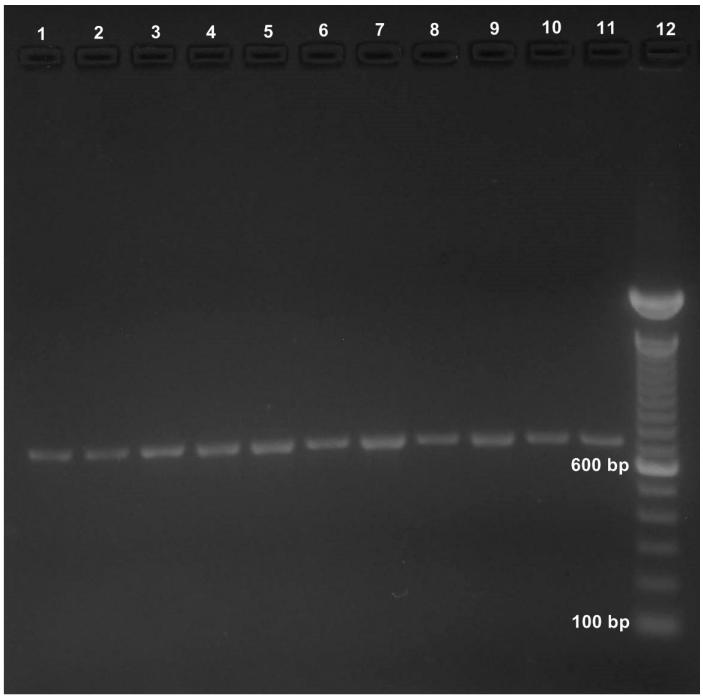


ภาพที่ 6 ตัวอย่างปะการังอ่อนจากบริเวณเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก ตัวแทนของประชากรในช่วงฤดูฝน ที่เก็บมาจำแนกชนิดของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมด้วย ตัวอย่างปะการังอ่อน ได้แก่ สกุล *Cladiella*

2. ผลการตรวจสอบสกุลของปะการังอ่อนและตรวจสอบ clade ของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อยู่ร่วมด้วย โดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม

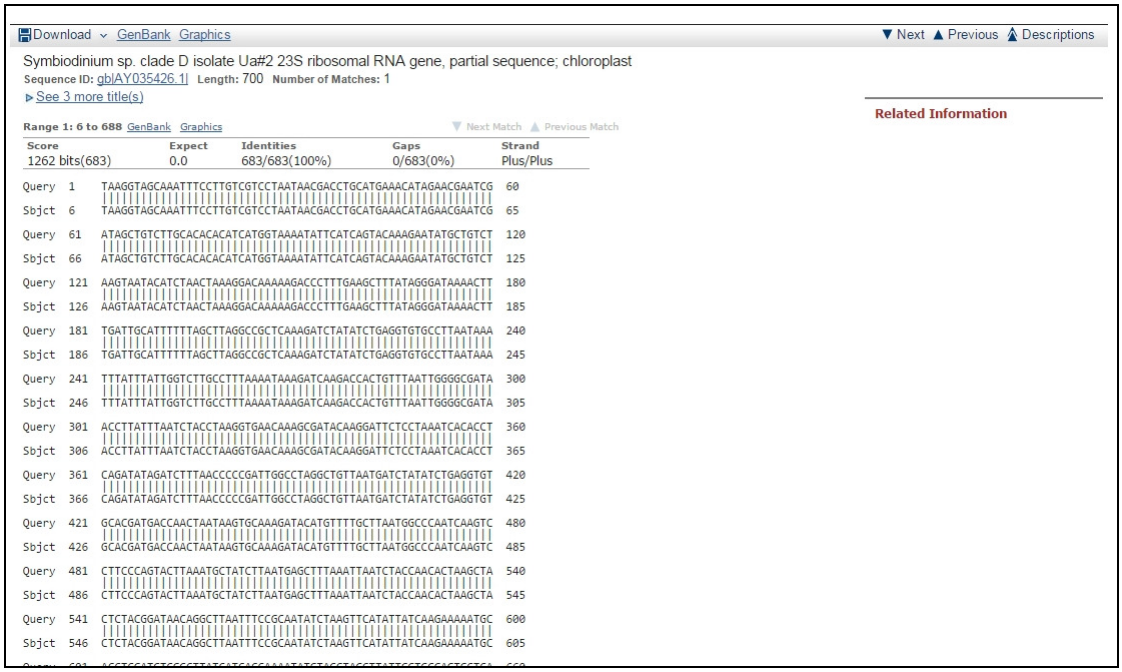
ตัวอย่างปะการังอ่อนที่ได้จากการเก็บตัวอย่างภาคสนามทั้ง 3 ครั้ง ผ่านการยืนยันสกุลของปะการังอ่อน โดยการวิเคราะห์ลำดับทางพันธุกรรมบริเวณ *msh1* ในไมโตคอนเดรีย เปรียบเทียบกับลำดับทางพันธุกรรมของปะการังอ่อนในฐานข้อมูล GenBank ตามวิธีการใน Panithanarak et al. (2013) ส่วนตัวอย่างสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อน จากการตรวจสอบและเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอบริเวณ cp23S rDNA ในตัวอย่างสาหร่าย *Symbiodinium* ที่

อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนสกุล *Cladiella*, *Lobophytum*, *Sarcophyton* และ *Sinularia* ซึ่งโดยส่วนมากแล้วปะการังอ่อนที่พบในการศึกษานี้จะอยู่ในสกุล *Cladiella* พบว่าตัวอย่างปะการังอ่อนที่เก็บจากแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง ของหมู่เกาะแสมสาร และเกาะจระเข้ ฝั่งตะวันตก ในแต่ละฤดูมีสาหร่าย *Symbiodinium* อาศัยอยู่ร่วมด้วยเพียง clade เดียว คือ สาหร่าย *Symbiodinium* clade D (ขนาดของดีเอ็นเอ ~700 bp, ภาพที่ 7) รายละเอียดของจำนวนและสกุลของปะการังอ่อนที่เก็บมาศึกษาแสดงในตารางที่ 1 นั่นคือ ในฤดูหนาว มีจำนวน 19 ตัวอย่าง จากปะการังอ่อนทั้ง 4 สกุล ฤดูร้อน จำนวน 10 ตัวอย่าง จากปะการังอ่อน 2 สกุล ได้แก่ *Cladiella* และ *Sarcophyton* (เก็บตัวอย่างจากแหลมญี่ปุ่น เกาะจวงไม่ได้ เพราะมีอุปสรรคจากคลื่นลมแรง) และฤดูฝน จำนวน 30 ตัวอย่าง จากปะการังอ่อน 2 สกุล ได้แก่ *Cladiella* และ *Sinularia*



ภาพที่ 7 การเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอบริเวณยีน cp23S rDNA ระหว่างตัวอย่างสาหร่าย *Symbiodinium* (เลนที่ 1-11) กับดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA ladder, เลนที่ 12)

จากการวิเคราะห์ความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรมบางส่วนบริเวณ cp23S rDNA จากตัวอย่างสาหร่าย *Symbiodinium* ทั้งหมดจำนวน 59 ตัวอย่าง สามารถจำแนกสาหร่าย *Symbiodinium* ได้เป็น clade D จากการเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมบริเวณ cp23S rDNA ของสาหร่าย *Symbiodinium* ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTN (ภาพที่ 8) ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจสอบ clade โดยการเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอ จากการเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมของตัวอย่างสาหร่าย 59 ตัวอย่าง (ฤดูหนาว n = 19, ฤดูร้อน n = 10, ฤดูฝน n = 30) ซึ่งมีขนาด 604 bp สามารถจำแนกลำดับทางพันธุกรรมได้เพียงรูปแบบเดียว หรือ haplotype เดียว นั่นคือ สาหร่าย *Symbiodinium* ทั้งหมดที่ทำการศึกษา มีลำดับทางพันธุกรรมเหมือนกันหมด



ภาพที่ 8 การเปรียบเทียบลำดับทางพันธุกรรมบริเวณ cp23S rDNA ของสาหร่าย *Symbiodinium* ในการศึกษานี้กับข้อมูลลำดับทางพันธุกรรมใน GenBank โดยใช้โปรแกรม BLASTN

3. ข้อมูลของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม

จากการบันทึกข้อมูลของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมบริเวณหมู่เกาะแสมสาร และเกาะข้างเคียง ตลอดปี 2557 โดยคณะปฏิบัติการวิทยาการ มหาวิทยาลัยบูรพา สนองพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ปี 2557 พบว่าข้อมูลของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ ค่าการละลายของออกซิเจนในน้ำทะเล (DO) ความลึก และความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล (pH) บริเวณเกาะจวง และเกาะจระเข้ ไม่ครบถ้วนสมบูรณ์ ขาดข้อมูลของเกาะจระเข้ในฤดูหนาว (24 ม.ค. 57) และขาดข้อมูลของทั้งสองเกาะในฤดูฝน (26 ก.ค. 57) อันเนื่องมาจากเครื่องมือที่ใช้ในการวัดอยู่ในสภาพใช้งานไม่ได้ จากข้อมูลที่มีอยู่ เมื่อเปรียบเทียบปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมของเกาะจวงระหว่างฤดูหนาวและฤดูร้อน (22 ม.ค. 57) พบว่า ฤดูร้อนมีค่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมสูงกว่าในฤดูหนาว นั่นคือความเค็มมากกว่า 0.6 psu อุณหภูมิสูงขึ้น 2.7 ℃ ค่า DO เพิ่มขึ้น 2.89 mg/L ยกเว้น pH ที่ลดลงเล็กน้อย (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบค่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมระหว่างเกาะจวง และเกาะจระเข้ ในฤดูร้อน พบว่าค่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมของเกาะจระเข้มีค่าสูงกว่าเกาะจวงเล็กน้อย ยกเว้นค่า pH ที่มีค่าน้อยกว่าเล็กน้อย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ข้อมูลปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ ค่าการละลายของออกซิเจนในน้ำทะเล (DO) ความลึก และความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล (pH) บริเวณเกาะจวง และเกาะจระเข้ ในช่วงฤดูหนาว ร้อน และฝนของปี 2557

วันที่	สถานที่	ความเค็ม (psu)	อุณหภูมิ (°C)	DO (mg/L)	ความลึก (m)	pH
24 ม.ค. 57	เกาะจวง	30.4	26.1	7.46	2	8.6
24 ม.ค. 57	เกาะจระเข้	-	-	-	-	-
22 มี.ค. 57	เกาะจวง	31.0	28.8	10.35	5	8.3
22 มี.ค. 57	เกาะจระเข้	31.5	29.3	11.68	2	8.1
26 ก.ค. 57	เกาะจวง	-	-	-	-	-
26 ก.ค. 57	เกาะจระเข้	-	-	-	-	-

วิเคราะห์ผลการวิจัย

การศึกษานี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ clade ในประชากรสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้านสกุล *Cladiella, Lobophytum, Sarcophyton* และ *Sinularia* จากการตรวจสอบและติดตามตัวอย่างปะการังอ่อนแบบสุ่มจากบริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง และเกาะจระเข้ในรอบ 1 ปี โดยตรวจพบสาหร่าย *Symbiodinium* clade D กลุ่มเดียวอาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้าน และไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ clade ของสาหร่ายตามการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม โดยมีข้อมูลยืนยันว่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และความเค็ม ในฤดูหนาวและฤดูร้อน ของปี 2557 บริเวณเกาะจวงแสดงความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความหลากหลายของสกุลของปะการังอ่อนที่พบในการศึกษานี้มีน้อย โดยส่วนใหญ่แล้วปะการังอ่อนที่พบและนำมาตรวจสอบ clade ของสาหร่ายที่อาศัยอยู่ร่วมด้วย จัดอยู่ในสกุล *Cladiella* คิดเป็น 84.75 % ของปะการังอ่อนที่ศึกษาทั้งหมด ซึ่งจากการศึกษาที่มีมาก่อนหน้านี้ พบว่าปะการังอ่อนในสกุล *Cladiella* มีความจำเพาะเจาะจงกับสาหร่าย *Symbiodinium* clade D เพียงกลุ่มเดียว ในขณะที่ปะการังอ่อนในสกุลอื่น เช่น *Lobophytum, Sarcophyton* และ *Sinularia* ตรวจพบสาหร่าย *Symbiodinium* ทั้ง clade C และ clade D (ทรรศิน ปณิธานะรักษ์ 2556) ทรรศิน ปณิธานะรักษ์ (2556) ได้อธิบายความจำเพาะเจาะจงของปะการังอ่อนสกุล *Cladiella* ซึ่งแตกต่างจากปะการังอ่อนสกุลอื่นในวงศ์เดียวกัน (เช่น *Lobophytum*, *Sarcophyton* และ *Sinularia*) ว่าอาจอธิบายได้จากทฤษฎีรูปแบบการได้รับสาหร่าย *Symbiodinium* ของปะการังอ่อนสกุล *Cladiella* ซึ่งมีการส่งต่อสาหร่ายจากปะการังเจ้าบ้านจากรุ่นพ่อแม่สู่รุ่นลูกโดยตรง (vertical mode of symbiont acquisition) แทนที่จะเป็นการได้รับสาหร่ายจากสิ่งแวดล้อม (horizontal mode of symbiont acquisition) ซึ่งการแพร่กระจายของสาหร่ายแปรผันตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป

การไม่พบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ clade ในประชากรสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้าน แม้ว่าปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมมีการแปรผันตามฤดูกาลในการศึกษานี้ แตกต่างจากผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ clade ในประชากรสาหร่าย *Symbiodinium* จากผลกระทบของปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว ที่เกิดขึ้นในประเทศไทยในปี 2553 ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมอย่างรุนแรง นั่นคือ อุณหภูมิของผิวน้ำทะเล ที่มีค่าสูงขึ้นอย่างผิดปกติ Panithanarak (2015) ได้รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของประชากรสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้านสกุล *Sinularia* บริเวณหมู่เกาะจวง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ภายหลังการเกิดปะการังฟอกขาว จากที่เคยพบสาหร่าย *Symbiodinium* clade C และ D ในสัดส่วนใกล้เคียงกัน กลับพบเฉพาะสาหร่าย *Symbiodinium* clade D ซึ่งเป็นสาหร่ายที่มีความทนทานต่ออุณหภูมิสูงและการฟอกขาวเพียงกลุ่มเดียวเท่านั้น การไม่พบสาหร่าย *Symbiodinium* clade C อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้านสกุล *Lobophytum*, *Sarcophyton* และ *Sinularia* ซึ่งเคยมีรายงานว่าพบได้ทั้ง *Symbiodinium* clade C และ clade D (ทรรศิน ปณิธานะรักษ์ 2556) ในการศึกษานี้ มีความเป็นไปได้เพราะการเก็บตัวอย่างปะการังอ่อนเป็นแบบสุ่ม และจำนวนตัวอย่างปะการังอ่อนในสกุล *Lobophytum*, *Sarcophyton* และ *Sinularia* ที่สำรวจพบในบริเวณที่ทำการศึกษามีจำนวนไม่มาก

การเปลี่ยนแปลงของสาหร่าย *Symbiodinium* ซึ่งอาศัยอยู่ภายในโคโลนีของปะการังเจ้าบ้าน กลไกนี้เรียกว่า *Symbiodinium* shuffling หรือ switching ซึ่งหมายถึง การเปลี่ยนแปลงความชุกชุมของสาหร่าย *Symbiodinium* แต่ละ clade หรือ subclade เนื่องจากผลกระทบของสิ่งแวดล้อม มักเกิดขึ้นเมื่อสาหร่ายมีการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมอย่างรุนแรง เช่น การเกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว มีรายงานการศึกษาจำนวนมากที่พบการเปลี่ยนแปลงประชากรสาหร่ายภายหลังการเกิดปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาว เช่น การเพิ่มความชุกชุมของประชากรสาหร่าย *Symbiodinium* clade D ในการศึกษาของ Berkelmans and van Oppen (2006), LaJeunesse et al. (2007), Jones et al. (2008) และ Panithanarak (2015) สาหร่าย *Symbiodinium* clade D โดยทั่วไปแล้ว มักจะพบอาศัยอยู่ร่วมกับปะการังเจ้าบ้านที่มีถิ่นอาศัยบริเวณชายฝั่ง ซึ่งได้รับผลกระทบเป็นอย่างมากจากความแปรปรวนของสิ่งแวดล้อม (van Oppen et al. 2005, Mostafavi et al. 2007, LaJeunesse et al. 2010a) นี่จึงอาจเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ปะการังอ่อนสกุล *Cladiella* ซึ่งมักพบบริเวณชายฝั่ง หรือในเขตน้ำตื้น มีความจำเพาะเจาะจงต่อสาหร่าย *Symbiodinium* clade D ซึ่งเป็นสาหร่ายกลุ่มที่ประสบความสำเร็จในการมีวิวัฒนาการให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ร่วมกับปะการังเจ้าบ้านในบริเวณที่ได้รับผลกระทบจากสภาพแวดล้อมที่แปรปรวน

สรุปผลการวิจัย

การติดตามการเปลี่ยนแปลง clade และความหลากหลายของสาหร่าย *Symbiodinium* ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้านสกุล *Cladiella, Lobophytum, Sarcophyton* และ *Sinularia* ซึ่งเป็นปะการังอ่อนเจ้าบ้านที่พบทั่วไปบริเวณแหลมญี่ปุ่น เกาะจวง และเกาะจระเข้ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี โดยการวิเคราะห์ความผันแปรของลำดับทางพันธุกรรมบางส่วนบริเวณยีน cp23S rDNA ในคลอโรพลาสต์ จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรสาหร่ายที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้านในรอบ 1 ปี พบสาหร่าย *Symbiodinium* clade D เพียงกลุ่มเดียวเท่านั้นที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนเจ้าบ้าน ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของประชากรสาหร่ายตามการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเล ซึ่งแปรผันตามการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปะการังอ่อนที่พบส่วนใหญ่เป็นปะการังอ่อนในสกุล *Cladiella* ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับสาหร่าย *Symbiodinium* clade D เพียงกลุ่มเดียว

เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมการแก้ไขปัญหาผลกระทบของการฟอกขาวต่อสถานภาพปะการัง. (2553). สถานการณ์ปะการังฟอกขาวและแนวทางการแก้ไขปัญหา (ร่าง position paper). สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเลและป่าชายเลน.

ทรรศิน ปณิธานะรักษ์. (2556). กลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและความหลากหลายของสาหร่ายซูแซนเทลลี่ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนในวงศ์ Alcyoniidae. *ประมวลผลงานวิจัยการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล 2555, วันที่ 17-19 ตุลาคม 2555 ณ โรงแรมตวันนารามาดา กรุงเทพมหานคร*, หน้า 169-184.

Baker, A. C. (2003). Flexibility and specificity of coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of *Symbiodinium*. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 34, 661-689.

Baker, A. C., Starger, C. J., McClanahan, T. R. and Glynn, P. W. (2004). Corals adaptive response to climate change. *Nature* 430, 741.

Berkelmans, R. and van Oppen, M. J. H. (2006). The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a 'nugget of hope' for coral reefs in an era of climate change. *Proceedings of the Royal Society* 273, 2305-2312.

Garren, M., Walsh, S. M., Caccone, A. and Knowlton, N. (2006). Patterns of association between *Symbiodinium* and members of the *Montastraea annularis* species complex on spatial scales ranging from within colonies to between geographic regions. *Coral Reefs* 25, 503-512.

Huang, X. and Madan, A. (1999). CAP3: A DNA sequence assembly program. *Genome Research 9*, 868-877.

Hughes, T. P., Baird, A. H., Bellwood, D. R., Card, M., Connolly, S. R., Folke, C., Grosberg, R., Hoegh-Guldberg, O., Jackson, J. B. C., Kleypas, J., Lough, J. M., Marshall, P., Nystrom, M., Palumbi, S. R., Pandolfi, J. M., Rosen, B. and Roughgarden, J. (2003). Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science* 31(5635), 929-933.

Jones, A. M., Berkelmans, R., van Oppen, M. J. H., Mieog, J. C. and Sinclair, W. (2008). A community change in the algal endosymbionts of a scleractinian coral following a natural bleaching event: field evidence of acclimatization. *Proceedings of the Royal Society B* 275(1641), 1359-1365.

LaJeunesse, T. C., Loh, W. K. W., van Woesik, R., Hoegh-Guldberg, O., Schmidt, G. W. and Fitt, W. K. (2003). Low symbiont diversity in southern Great Barrier Reef corals, relative to those of the Caribbean. *Limnology and Oceanography* 48, 2046-2054.

LaJeunesse, T. C., Pettay, D. T., Sampayo, E. M., Phongsuwan, N., Brown, B., Obura, D. O., Hoegh-Guldberg, O. and Fitt, W. K. (2010a). Long-standing environmental conditions, geographic isolation and host-symbiont specificity influence the

relative ecological dominance and genetic diversification of coral endosymbionts in the genus *Symbiodinium*. *Journal of Biogeography* 37, 785-800.

LaJeunesse, T. C., Reyes-Bonilla, H. and Warner, M. E. (2007). Spring bleaching among "*Pocillopora*" in the Sea of Cortez. *Eastern Pacific Coral Reefs* 26, 265-270.

LaJeunesse, T. C., Smith, R. T., Finney, J. and Oxenford, H. (2009). Outbreak and persistence of opportunistic symbiotic dinoflagellates during the 2005 Caribbean mass coral "bleaching" event. *Proceedings of the Royal Society B* 276(1676), 4139-4148.

LaJeunesse, T. C., Smith, R., Walther M., Pinzón, J., Pettay, D. T., McGinley, M., Aschaffenburg, M., Medina-Rosas, P., Cupul-Magana, A. L., Pérez, A. L., Reyes-Bonilla, H. and Warner, M. E. (2010b). Host-symbiont recombination versus natural selection in the response of coral-dinoflagellate symbioses to environmental disturbance. *Proceedings of the Royal Society B* 277, 2925-2934.

Mostafavi, P. G., Fatemi, S. M. R., Shahhosseiny, M. H., Hoegh-Guldberg, O. and Loh, W. K. W. (2007). Predominance of clade D *Symbiodinium* in shallow-water reef-building corals off Kish and Larak Islands (Persian Gulf, Iran). *Marine Biology* 153, 25-34.

Oliver, T. A. and Palumbi, S. R. (2009). Distributions of stress-resistant coral symbionts match environmental patterns at local but not regional scales. *Marine Ecology Progress Series* 378, 93-103.

Oliver, T. A. and Palumbi, S. R. (2011). Many corals host thermally resistant symbionts in high-temperature habitat. *Coral Reefs* 30, 241-250.

Panithanarak, T. (2012). Habitat partitioning of genetically distinct zooxanthellae inhabiting soft corals in the genus *Sinularia*. *Proceedings of the Burapha University International Conference 2012 (BUU2012), 9-11 July 2012 at Jomtien Palm Beach Hotel & Resort, Pattaya, Thailand*, pp. 512-523.

Panithanarak, T. (2015). Effects of the 2010 coral bleaching on phylogenetic clades and diversity of zooxanthellae (*Symbiodinium* spp.) in soft corals of the genus *Sinularia*. *Plankton and Benthos Research* 10(1), 11-17.

Panithanarak, T., Siriwong, S., Putchakarn, S. and Dheerakamporn, S. (2013). Genetic diversity of soft corals of the family Alcyoniidae along Nang-Rong Beach, Jorake Island and Juang Islands, Amphur Sattahip, Chonburi Province. *Galaxea, Journal of Coral Reef Studies* 15 (Supplement), 182-188.

Pochon, W. and Gates, R. D. (2010). A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawaii. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56(1), 492-497.

Rowan, R. (2004). Coral bleaching: thermal adaptation in reef coral symbionts. *Nature* 430, 742.

Sampayo, E. M., Ridgway, T., Bongaerts, P. and Hoegh-Guldberg, O. (2008). Bleaching susceptibility and mortality of corals are determined by fine-scale differences in symbiont type. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(30), 10444-10449.

Santos, S. R., Taylor, D. J., Kinzie, R. A. III, Hidaka, M., Sakai, K. and Coffroth, M. A. (2002). Molecular phylogeny of symbiotic dinoflagellates inferred from partial chloroplast large subunit (23S)-rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23, 97-111.

Stat, M., Loh, W. K. W., Hoegh-Guldberg, O. and Carter, D. A. (2008). Symbiont acquisition strategy drives host-symbiont associations in the southern Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 27, 763-772.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. (1997). The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24, 4876-4882.

Thornhill, D. J., LaJeunesse, T. C., Kemp, D. W., Fitt, W. K. and Schmidt, G. W. (2006). Multi-year seasonal genotypic surveys of coral-algal symbioses reveal prevalent stability or post-bleaching reversion. *Marine Biology* 148, 711-722.

Toller, W. W., Rowan, R. and Knowlton, N. (2001). Zooxanthellae of the *Montastraea annularis* species complex: patterns of distribution of four taxa of *Symbiodinium* on different reefs and across depths. *Biological Bulletin* 201, 348-359.

van Oppen, M. J. H., Mieog, J. C., Sánchez, A. and Fabricius, K. E. (2005). Diversity of algal endosymbionts (zooxanthellae) in octocorals: the roles of geography and host relationships. *Molecular Ecology* 14, 2403-2417.

Zhang, Z., Green, B. R. and Cavalier-Smith, T. (2000). Phylogeny of ultra-rapidly evolving dinoflagellate chloroplast genes: a possible common origin for sporozoan and dinoflagellate plastids. *Journal of Molecular Evolution* 51, 26-40.