

บทที่ 3

พัฒนาการและอัตราการรอดของปะการังเขากวาง *Acropora* spp. ระยะการปฏิสนธิถึงระยะการลงเกาะบนพื้นผิว

ศึกษาพัฒนาการปะการัง *Acropora* spp. ตั้งแต่ระยะที่เซลล์สืบพันธุ์ได้รับการปฏิสนธิจนถึงระยะการลงเกาะบนพื้นผิว โดยการนำเซลล์สืบพันธุ์ของปะการังที่ได้จากการปล่อยตามธรรมชาติมาปฏิสนธิและอนุบาลต่อในระบบเลี้ยง ศึกษาพัฒนาการของปะการังภายหลังที่เซลล์ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจนกระทั่งเป็นตัวอ่อนระยะว่ายน้ำภายใต้กล้องจุลทรรศน์และกระบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยา ประเมินอัตราการปฏิสนธิและอัตราการรอดของตัวอ่อนปะการังระยะว่ายน้ำ รวมทั้งประเมินอัตราการลงเกาะของตัวอ่อน ทั้งนี้ ผลการศึกษานำมาปรับปรุงใช้ในการอนุบาลตัวอ่อนปะการังระยะต่อไป

3.1 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1.1 ชนิดของปะการังที่ใช้ในการศึกษา

ทำการศึกษาในปะการัง *Acropora* จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Acropora humilis*, *Acropora hyacinthus*, *Acropora millepora* และ *Acropora nasuta* เช่นเดียวกับการศึกษาในหัวข้อ 2.1.1 (รูปที่ 2.1)

3.1.2 พื้นที่ศึกษา

นำเซลล์สืบพันธุ์ปะการัง *Acropora* spp. จากบริเวณอ่าวสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ทั้ง 3 พื้นที่ (เกาะเต่าหม้อ เขาหมาจอ และ เกาะปลาหมึก รูปที่ 2.2) มาทำการปฏิสนธิและอนุบาล ณ โรงเพาะขยายพันธุ์ปะการังชั่วคราว เกาะแสมสาร อ่าวสัตหีบ จังหวัดชลบุรี (รูปที่ 3.1)

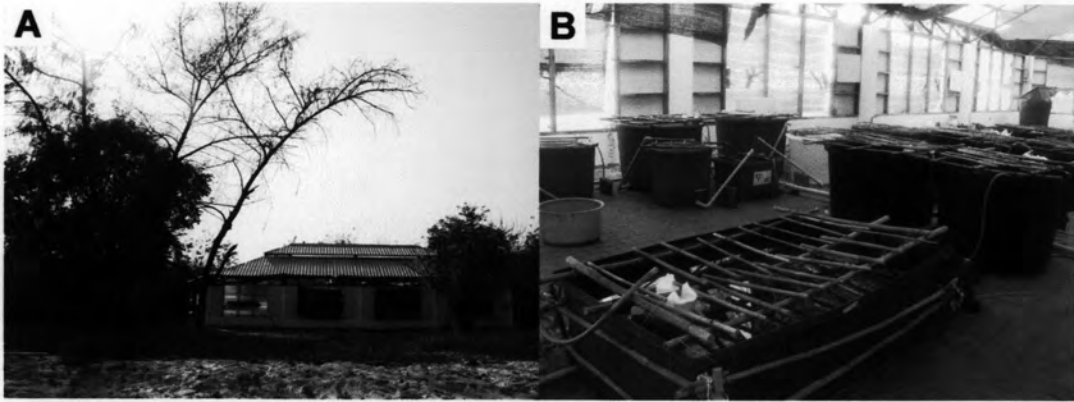
3.1.3 ขั้นตอนการศึกษา

แบ่งขั้นตอนการศึกษาในระบบเลี้ยง ตั้งแต่การปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ถึงระยะการลงเกาะบนพื้นผิวของตัวอ่อนปะการังออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ 1) ระยะการปฏิสนธิของไข่และสเปิร์ม 2) ระยะหลังการปฏิสนธิถึงระยะก่อนการลงเกาะบนพื้นผิวของตัวอ่อนปะการัง และ 3) ระยะการลงเกาะบนพื้นผิวของตัวอ่อนปะการัง

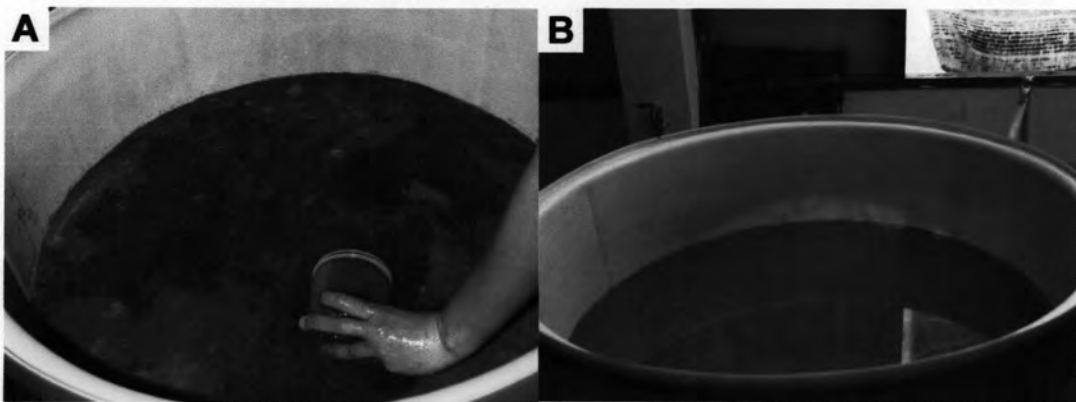
3.1.3.1 ระยะการปฏิสนธิของไข่และสเปิร์ม (fertilization stage)

(1) การผสมเซลล์สืบพันธุ์

การผสมเซลล์สืบพันธุ์ของปะการังใช้วิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Hatta *et al.* (2004) โดยผสมเซลล์สืบพันธุ์ทุกโคโลนีของปะการังแต่ละชนิดที่ได้จากการปล่อยตามธรรมชาติเข้าด้วยกัน เพื่อลดโอกาสการผสมกันเองภายในโคโลนีเดียวกัน ทำการผสมเซลล์สืบพันธุ์ดังกล่าวในถังอนุบาลทรงกลม ขนาด 200 ลิตร (รูปที่ 3.2) ที่มีปริมาตรน้ำทะเลประมาณ 100 ลิตร กวนมวลน้ำอย่างช้าๆ เพื่อให้ฝักของเซลล์สืบพันธุ์กระจายออกจากกัน โดยที่เซลล์ไข่แตกออกจากฝักลอยอยู่บนผิวน้ำ ปล่อยให้ฝักลอยว่างไว้โดยปราศจากการรบกวนเป็นเวลา 1 – 2 ชั่วโมง เพื่อให้ไข่มีโอกาสได้รับการปฏิสนธิกับสเปิร์มอย่างทั่วถึง จากนั้น ล้างเซลล์ไข่และลดความหนาแน่นของไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ โดยการขยายลงสู่ถังอนุบาลอื่น ทั้งนี้ ความหนาแน่นที่เหมาะสมในการอนุบาลไข่หลังการปฏิสนธิขึ้นอยู่กับอัตราการกระจายของเซลล์ไข่ที่แผ่ขยายทั่วบริเวณผิวน้ำโดยไม่มีการซ้อนทับกัน ล้างและ/หรือลดความหนาแน่นของเซลล์ไข่ด้วยวิธีการเช่นเดิมเมื่อเซลล์ไข่มีความสะอาดไม่เพียงพอและ/หรือมีความหนาแน่นมากเกินไป เปลี่ยนถ่ายน้ำเพื่อรักษาคุณภาพของน้ำทุก 6 ชั่วโมงหรือน้อยกว่า โดยวิธีการเดียวกันจนถึงชั่วโมงที่ 18 ภายหลังการปฏิสนธิ จึงปรับเปลี่ยนวิธีการถ่ายน้ำเป็นการเติมน้ำทะเลเข้าสู่ถังอนุบาลแทน ทำเช่นนี้ทุก 6 ชั่วโมงเช่นกัน เพื่อรักษาคุณภาพน้ำ จนกระทั่งตัวอ่อนปะการังมีพฤติกรรมพร้อมทำการลงเกาะบนพื้นผิว



รูปที่ 3.1 โรงเพาะขยายพันธุ์ปะการังชั่วคราว เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี
 A: ภายนอกโรงเพาะขยายพันธุ์ และ B: ตั้งอนุบาลขนาดต่างๆ ภายในโรงเพาะขยายพันธุ์



รูปที่ 3.2 การผสมเซลล์สืบพันธุ์
 A: ขณะทำการผสม และ B: เซลล์ไข่ที่ได้รับการผสมแล้ว

(2) การประเมินอัตราการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์

ประเมินอัตราการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ปะการังที่ได้จากถังอนุบาลขนาด 200 ลิตร ดังกล่าวข้างต้น (หัวข้อ 2.1.3.1 (1)) ทั้งนี้ จำนวนถังอนุบาลขึ้นอยู่กับจำนวนโคโลนีปะการังที่เก็บเซลล์สืบพันธุ์ในแต่ละพื้นที่ สุ่มนับจำนวนเซลล์ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิและไม่ได้รับการปฏิสนธิในถังอนุบาลด้วยปริมาตรน้ำ 100 มิลลิลิตร เป็นจำนวน 3 ครั้ง ต่อถังอนุบาล ทั้งนี้ อัตราการปฏิสนธิใช้การสุ่มตรวจวัดในช่วงเวลาที่ 7 – 10 ภายหลังจากการปฏิสนธิ เนื่องจากเป็นระยะที่สามารถแยกเซลล์ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิด้วยตาเปล่าได้อย่างชัดเจน (Omori *et al.*, 2001) นอกจากนั้น ได้ทำการประเมินโอกาสเกิดการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ที่มาจากโคโลนีเดียวกัน โดยสุ่มใช้เซลล์สืบพันธุ์จากโคโลนีเดียวกันมาทำการผสมระหว่างไข่และสเปิร์ม

(3) การประเมินความหนาแน่นของสเปิร์มในระยะการปฏิสนธิ

ประเมินความหนาแน่นของสเปิร์มในระยะการปฏิสนธิ โดยสุ่มตัวอย่างสเปิร์มจากถังอนุบาลขนาด 200 ลิตร ดังกล่าวข้างต้น ด้วยปริมาตรน้ำ 10^{-4} มิลลิลิตร เป็นจำนวน 3 ครั้ง ทำการนับความหนาแน่นของสเปิร์มโดย hemacytometer เช่นเดียวกับหัวข้อ 2.1.3.3 (3) (รูปที่ 2.4)

3.1.3.2 ระยะหลังการปฏิสนธิถึงระยะก่อนการลงเกาะบนพื้นผิวของตัวอ่อนปะการัง

(1) พัฒนาการของเซลล์ปะการังภายหลังการปฏิสนธิ

ศึกษาพัฒนาการของเซลล์ปะการังภายหลังการปฏิสนธิจนเป็นตัวอ่อนระยะว่ายน้ำภายใต้กล้องจุลทรรศน์และกระบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยา สุ่มเก็บตัวอย่างเซลล์ดังกล่าวภายหลังการปฏิสนธิ เป็นจำนวน 25 – 75 เซลล์ ทุกชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 – 15 จากนั้น เก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 – 36 และ ทุก 12 ชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ถึงระยะเป็นตัวอ่อนที่พร้อมลงเกาะบนพื้นผิว ทั้งนี้ แบ่งตัวอย่างที่เก็บแต่ละระยะออกเป็น 2 ส่วน โดยนำมารักษาสภาพในสารละลาย 10% ฟอรัมาลินในน้ำทะเล (1 ส่วน) และสารละลายบูแองก์ (Bouin solution) (1 ส่วน) บันทึกภาพพัฒนาการของเซลล์ปะการัง *Acropora* พร้อมทั้งเปรียบเทียบช่วงเวลาในพัฒนาการของปะการังดังกล่าว

(2) การประเมินอัตราการรอดของตัวอ่อนที่มีพัฒนาการเป็นตัวอ่อนระยะว่ายน้ำ

เมื่อตัวอ่อนปะการังมีพัฒนาการถึงระยะว่ายน้ำ จึงทำการประเมินอัตราการรอดของตัวอ่อนระยะดังกล่าว โดยสุ่มตัวอย่างเซลล์ไข่ปะการัง 3 ชนิด (*Acropora humilis*, *Acropora millepora* และ *Acropora nasuta*) ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้ว จำนวน 100 เซลล์ ลงในตู้กระจกทดลองขนาด

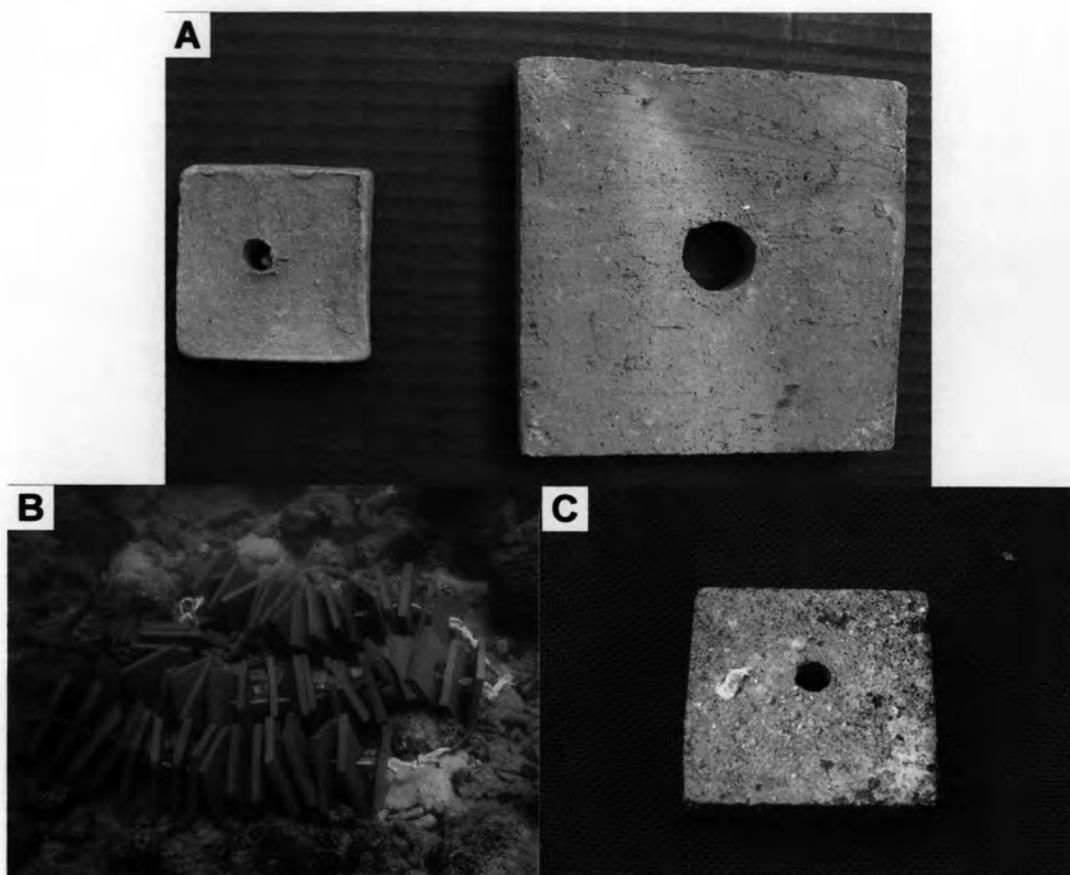
10x10x20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำการทดลอง 5 ซ้ำ โดยนับจำนวนตัวอ่อนที่อยู่ในระยะว่ายน้ำทั้งหมด ณ ชั่วโมงที่ 60 ภายหลังจากปฏิสนธิ

3.1.3.3 ระยะการลงเกาะบนพื้นผิวของตัวอ่อนปะการัง

(1) การเตรียมการลงเกาะบนพื้นผิว

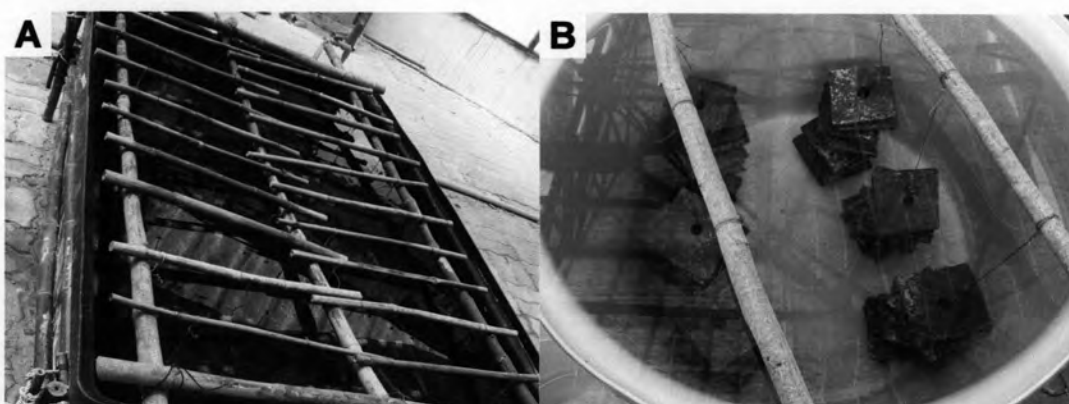
เตรียมวัสดุที่ใช้ในการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังเมื่อพบพฤติกรรมพร้อมทำการลงเกาะ โดยใช้แผ่นกระเบื้องดินเผาสี่เหลี่ยม 2 ขนาด (5x5 และ 10x10 ตารางเซนติเมตร) (รูปที่ 3.3 A) ที่ผ่านการแช่ในทะเล (รูปที่ 3.3 B) เพื่อให้เกิดสาหร่ายหินปูน (coralline red algae) ซึ่งใช้เป็นตัวเหนี่ยวนำให้ตัวอ่อนปะการังทำการลงเกาะบนพื้นผิวได้มากขึ้น (Hatta *et al.*, 2004) ทั้งนี้ ก่อนนำมาใช้ได้ทำความสะอาดสิ่งมีชีวิตอื่นที่เกาะติดบนแผ่นกระเบื้องดังกล่าว เพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมเข้ามาในระบบเลี้ยง โดยระวังไม่ให้สาหร่ายหินปูนถูกกำจัดออกไปด้วย (รูปที่ 3.3 C)

เมื่อตัวอ่อนปะการังมีพฤติกรรมการว่ายน้ำอยู่ใกล้กับพื้นหรือผนังของถังอนุบาล จึงย้ายตัวอ่อนปะการังลงในถังอนุบาลที่ได้ทำการจัดวางแผ่นกระเบื้องโดยการแขวนเป็นแถวในลักษณะแนวตั้ง (รูปที่ 3.4 A) และแนวนอน (รูปที่ 3.4 B) ระยะนี้ไม่ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำเนื่องจากเป็นการรบกวนกระบวนการลงเกาะของตัวอ่อนปะการัง อย่างไรก็ตาม ระหว่างนั้นให้เติมน้ำทะเลวันละ 1 ครั้ง จนกระทั่งตัวอ่อนอายุ 3 วันหลังการลงเกาะ ซึ่งเป็นระยะที่ตัวอ่อนทำการเกาะอย่างสมบูรณ์หรือค่อนข้างสมบูรณ์ จากนั้นจึงเปลี่ยนวิธีการเติมน้ำเป็นการให้น้ำทะเลไหลผ่านตลอดเวลา



รูปที่ 3.3 แผ่นกระเบื้องดินเผาใช้ในการศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปะการัง

A: แผ่นกระเบื้องดินเผา ขนาด 5x5 และ 10x10 ตารางเซนติเมตร; B: ลักษณะของแผ่นกระเบื้องดินเผาขณะที่แช่ในทะเล และ C: แผ่นกระเบื้องดินเผาที่พร้อมนำไปใช้ ซึ่งผ่านการแช่และทำความสะอาดแล้ว



รูปที่ 3.4 ลักษณะการจัดแขวนแผ่นกระเบื้องดินเผาในถังอนุบาล

A: การจัดแขวนแนวตั้ง และ B: การจัดแขวนแนวนอน

(2) ประเมินอัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปะการัง

ศึกษาอายุของตัวอ่อนที่พร้อมลงเกาะ ระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่แผ่นกระเบื้องดินเผาเพื่อให้เกิดสาหร่ายหินปูน และตำแหน่งที่เหมาะสมในการลงเกาะบนแผ่นกระเบื้องดินเผา โดยมีขั้นตอนดังนี้

(2-1) อายุของตัวอ่อนปะการังที่เหมาะสมในการลงเกาะบนพื้นผิว

นำตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* ที่ได้จากการเพาะพันธุ์ในรอบปี 2548/2549 ซึ่งพร้อมลงเกาะมาศึกษาในตู้กระจกทดลองขนาดเล็ก (15x15x15 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ใช้กระเบื้องดินเผาขนาด 5x5 ตารางเซนติเมตร 1 แผ่น/ตู้ ที่ผ่านการแช่ในน้ำทะเลนาน 2 เดือน เป็นวัสดุในการลงเกาะ โดยวางแนวนอน จากนั้น นำตัวอ่อนปะการังอายุ 4, 5, 6, 7 และ 9 วัน ภายหลังจากปฏิสนธิ จำนวน 40 – 50 ตัว ใส่ในตู้ทดลองแต่ละตู้ ทำการทดลอง 5 ซ้ำต่อชุดการทดลอง (อายุตัวอ่อนปะการัง) นับจำนวนตัวอ่อนที่ทำการลงเกาะและไม่ลงเกาะบนแผ่นกระเบื้องหลังจากติดตามเป็นเวลา 5 วัน คือ ที่อายุ 9, 10, 11, 12 และ 14 วันหลังการปฏิสนธิ ลักษณะการทดลองในตู้ทดลองขนาดเล็กแสดงในรูปที่ 3.5

(2-2) ระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่แผ่นกระเบื้องดินเผาในทะเลเพื่อให้เกิดสาหร่ายหินปูน

ศึกษาในปะการัง *Acropora humilis* ที่ได้จากการเพาะพันธุ์ในรอบปี 2548/2549 และ 2549/2550 โดยในรอบปีที่หนึ่งเป็นการติดตามอัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังอายุ 4 วัน หลังการปฏิสนธิในระบบเพาะขยายพันธุ์ (ถังอนุบาลขนาด 200 ลิตร) โดยตรง ทำการผสมตัวอย่างแผ่นกระเบื้องดินเผาขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร ที่ผ่านการแช่ในน้ำทะเลเป็นเวลาต่างกัน (1, 2 และ 3 เดือน) จำนวน 5, 5 และ 12 แผ่น เพื่อนับจำนวนตัวอ่อนปะการังในวันที่ 7 (11 วันหลังการปฏิสนธิ) สำหรับรอบปีที่สอง ศึกษาในตู้กระจกทดลองขนาดเล็ก (25x25x20 ลูกบาศก์เซนติเมตร) โดยใช้กระเบื้องดินเผาขนาด 5x5 ตารางเซนติเมตร จำนวน 2 แผ่น/ตู้ ที่ผ่านการแช่ในน้ำทะเลนาน 1, 2, 3 และ 4 เดือน เป็นวัสดุในการลงเกาะ โดยวางในแนวนอน สำหรับแผ่นกระเบื้องที่ไม่แช่ในน้ำทะเลใช้ขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร จำนวน 1 แผ่น/ตู้ จากนั้น นำตัวอ่อนปะการังอายุ 4 วัน ภายหลังจากปฏิสนธิ จำนวน 100 ตัว มาใส่ในตู้ทดลองแต่ละตู้ ทดลอง 5 ซ้ำต่อชุดการทดลอง (ระยะเวลาการแช่แผ่นกระเบื้องดินเผาในน้ำทะเล) ประเมินอัตราการลงเกาะในวันที่ 5 (9 วันหลังการปฏิสนธิ)



รูปที่ 3.5 ลักษณะการทดลองการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังบนพื้นผิวในตู้กระจกขนาดเล็ก

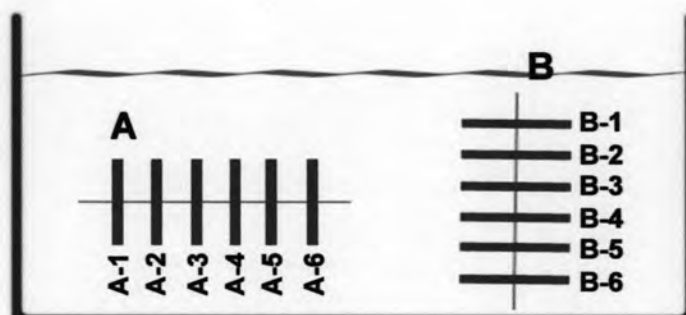
(2-3) อัตราและตำแหน่งที่เหมาะสมในการลงเกาะบนพื้นผิวของปะการัง

นำตัวอ่อนปะการัง *Acropora* ทั้ง 4 ชนิด ที่ได้จากการเพาะพันธุ์ในรอบปี 2549/2550 ซึ่งมีอายุ 4 วันหลังการปฏิสนธิ จำนวน 100 ตัว มาศึกษาเปรียบเทียบอัตราการลงเกาะบนแผ่นกระเบื้องดินเผา ขนาด 10x10 ตารางเซนติเมตร ที่ผ่านการแช่ในน้ำทะเลนาน 3 เดือน (1 แผ่น/ตู้) ในตู้กระจกทดลองขนาด 25x25x20 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยวางในแนวนอน ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ต่อชุดการทดลอง และประเมินอัตราการลงเกาะในวันที่ 5 (9 วันหลังการปฏิสนธิ)

นอกจากนั้น ได้ศึกษาดำเนินการลงเกาะบนพื้นผิวกระเบื้องดินเผา โดยวางแผ่นกระเบื้องดังกล่าวในแนวนอนที่ยกสูงจากพื้นตู้ทดลองประมาณ 1 เซนติเมตร เปรียบเทียบตำแหน่งด้านบน ด้านล่าง และขอบของแผ่นกระเบื้อง รวมถึงพื้นตู้ทดลอง และจำนวนตัวอ่อนที่ไม่ลงเกาะด้วยวิธีเดียวกับการศึกษาข้างต้น

ทั้งนี้ ศึกษาเปรียบเทียบตำแหน่งการลงเกาะของปะการัง *Acropora humilis* บนพื้นผิวของแผ่นกระเบื้องดินเผาในระบบเพาะขยายพันธุ์โดยตรง (ถังอนุบาลสี่เหลี่ยมขนาด 300 ลิตร) โดยให้แผ่นกระเบื้องดินเผาขนาด 5x5 ตารางเซนติเมตร ผูกติดต่อกันเป็นแถว แถวละ 6 แผ่น โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็นลักษณะการวางแผ่นกระเบื้องแต่ละแถวในถังอนุบาลตามแนวตั้ง (จากซ้ายไปขวา: A-1, A-2, ..., A-6) และแนวนอน (จากบนไปล่าง: B-1, B-2, ..., B-6) ดังรูปที่ 3.6 และระยะเวลาที่นำแผ่นกระเบื้องดินเผาแช่ในน้ำทะเลที่ต่างกัน (1, 2, 3 และ 4 เดือน) โดยใช้

จำนวนแถว 3 – 4 แถว ต่ออายุของแผ่นกระเบื้องในแต่ละลักษณะการวาง เพื่อศึกษาจำนวนตัวอ่อนปะการังที่ทำการลงเกาะบนด้านข้าง (ซ้าย/ขวา) ด้านบน ด้านล่าง หรือ ขอบของแผ่นกระเบื้องดังกล่าว เมื่อตัวอ่อนอายุ 30 วันหลังเริ่มทำการลงเกาะบนพื้นผิว



รูปที่ 3.6 ลักษณะการวางแผ่นกระเบื้องดินเผาแต่ละแถวในถังอนุบาลขนาด 300 ลิตร
A: การวางในแนวตั้ง และ B: การวางในแนวนอน

(3) ประเมินพัฒนาการของตัวอ่อนปะการังระยะหลังการลงเกาะบนพื้นผิว

ศึกษาพัฒนาการของตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* ระยะลงเกาะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตั้งแต่ระยะเริ่มลงเกาะจนถึงระยะที่ลงเกาะสมบูรณ์ ซึ่งเป็นระยะที่ตัวอ่อนปะการังมีการสร้างโครงร่างหินปูนเรียบร้อยแล้ว โดยติดตามพัฒนาการดังกล่าวเป็นระยะเวลาประมาณ 3 วัน หลังจากให้ตัวอ่อนทำการลงเกาะบนพื้นผิว

3.1.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ One Way ANOVA และ Tukey-Pairwise Mean Comparison ($P < 0.05$) เพื่อเปรียบเทียบการลงเกาะบนพื้นผิวของตัวอ่อนที่ลงเกาะในแต่ละบริเวณของแผ่นกระเบื้อง ชนิดของวัสดุที่ตัวอ่อนลงเกาะ และระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการแช่กระเบื้องในทะเล

3.2 ผลการศึกษา

3.2.1 ระยะการปฏิสนธิของไข่และสเปิร์ม

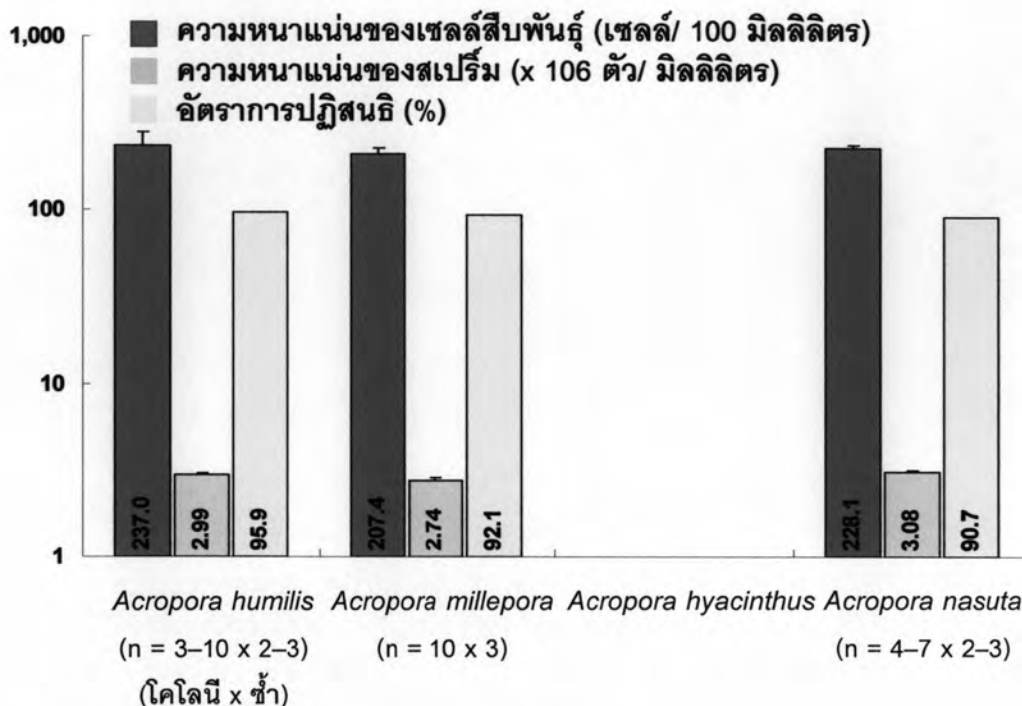
3.2.1.1 อัตราการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์

ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ที่ได้รับการปฏิสนธิและไม่ได้รับการปฏิสนธิในชั่วโมงที่ 8 แสดงในรูปที่ 3.7 และอัตราการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ในชั่วโมงที่ 7 – 9 แสดงในรูปที่ 3.8

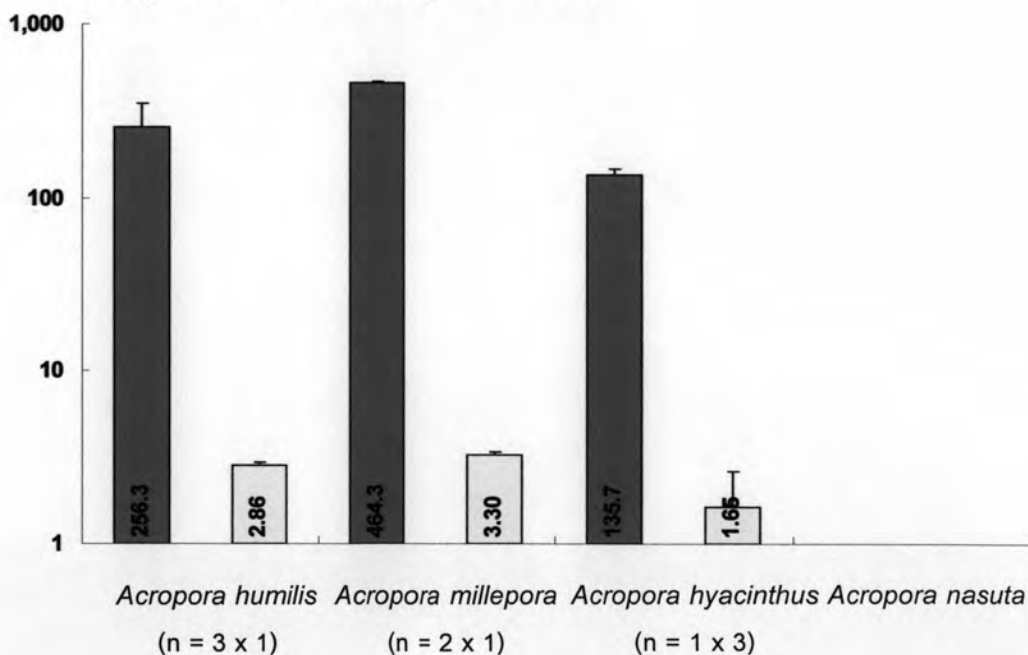


รูปที่ 3.7 ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ที่ได้รับและไม่ได้รับการปฏิสนธิในชั่วโมงที่ 8

A: การปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างโคโลนี



B: การปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ภายในโคโลนี



รูปที่ 3.8 การปฏิสนธิของปะการัง *Acropora* ในระบบเลี้ยง

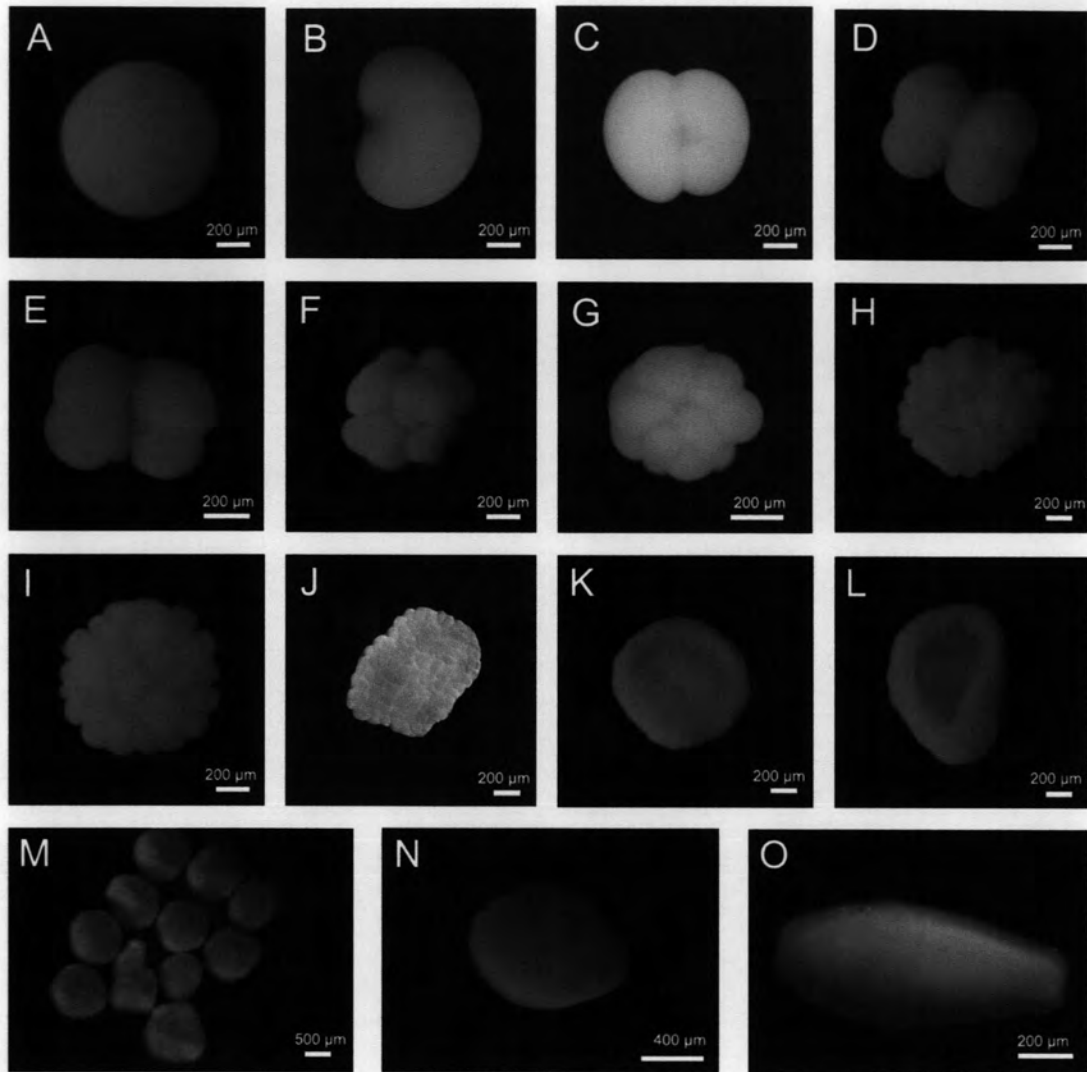
A: การปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างโคโลนี และ B: การปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ภายในโคโลนีเดียวกัน

อัตราการปฏิสนธิของปะการัง *Acropora* 3 ชนิด ที่ใช้เซลล์สืบพันธุ์จากจำนวนโคโลนีมากกว่า 3 โคโลนีขึ้นไป (3 – 10 โคโลนี) มาทำการผสมเข้าด้วยกันในระบบเลี้ยง มีค่าเฉลี่ยระหว่างร้อยละ 90.7 ในปะการัง *Acropora nasuta* ถึง ร้อยละ 95.9 ในปะการัง *Acropora humilis* (รูปที่ 3.8 A) ซึ่งแตกต่างจากอัตราการปฏิสนธิภายในโคโลนีเดียวกันที่มีอัตราการปฏิสนธิสูงสุดที่ ร้อยละ 3.3 ในปะการัง *Acropora millepora* (รูปที่ 3.8 B) อย่างชัดเจน ขณะที่ ความหนาแน่นของเซลล์สืบพันธุ์ที่แตกต่างกันในการศึกษาครั้งนี้ที่อยู่ระหว่าง 207.4 – 237.0 เซลล์/100 มิลลิลิตร ในกลุ่มปฏิสนธิระหว่างโคโลนี (รูปที่ 3.8 A) และ 135.7 – 464.3 เซลล์/100 มิลลิลิตร) ในกลุ่มปฏิสนธิภายในโคโลนีเดียวกัน ไม่ส่งผลต่ออัตราปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ปะการัง (รูปที่ 3.8 B) ทั้งนี้ ความหนาแน่นของสเปิร์มของปะการังทั้ง 3 ชนิด ขณะเซลล์ไข่ได้รับการปฏิสนธิมีค่าไม่แตกต่างกัน (ระหว่าง $2.74 - 3.08 \times 10^6$ ตัวต่อมิลลิลิตร) (รูปที่ 3.8 A)

3.2.2 ระยะหลังการปฏิสนธิถึงระยะก่อนการลงเกาะบนพื้นผิวของตัวอ่อนปะการัง

3.2.2.1 พัฒนาการของเซลล์ปะการังภายหลังการปฏิสนธิ

พัฒนาการของไซโกต (zygote) เริ่มขึ้นภายหลังการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ (รูปที่ 3.9 และ 3.10) โดยเซลล์ไข่ที่ได้รับการผสม (รูปที่ 3.9 A) เริ่มทำการแบ่งเซลล์ครั้งแรกออกเป็น 2 เซลล์ที่เท่ากัน (รูปที่ 3.9 B – C) จากนั้นจึงเกิดการแบ่งเซลล์แบบทวีคูณเป็นระยะ 4, 8 และ 16 เซลล์ตามลำดับ (รูปที่ 3.9 D – F) เมื่อไซโกตมีพัฒนาการเป็นกลุ่มเซลล์จำนวนมากขึ้น (รูปที่ 3.9 G – I) ลักษณะของรูปทรงเริ่มแบนลงและมีความกว้างเพิ่มขึ้นคล้ายข้าวเกรียบ ซึ่งเรียกว่าระยะ prawn chip stage หรือ concave-convex dish shape (รูปที่ 3.9 J – K) จากนั้นบริเวณขอบของไซโกตเริ่มม้วนเข้าหากัน (รูปที่ 3.9 L) และกลับมามีรูปร่างกลมอีกครั้งหนึ่ง กลายเป็นตัวอ่อนว่ายน้ำระยะเริ่มต้นที่ยังว่ายน้ำไม่ได้หรือว่ายน้ำได้เล็กน้อย (รูปที่ 3.9 M – N) ซึ่งต่อมามีพัฒนาการเป็นตัวอ่อนระยะว่ายน้ำที่สมบูรณ์ (รูปที่ 3.9 O และ 3.11) ทั้งนี้ พัฒนาการในระยะต่างๆ ของปะการัง *Acropora* ทั้ง 4 ชนิด มีช่วงเวลาใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 3.1)



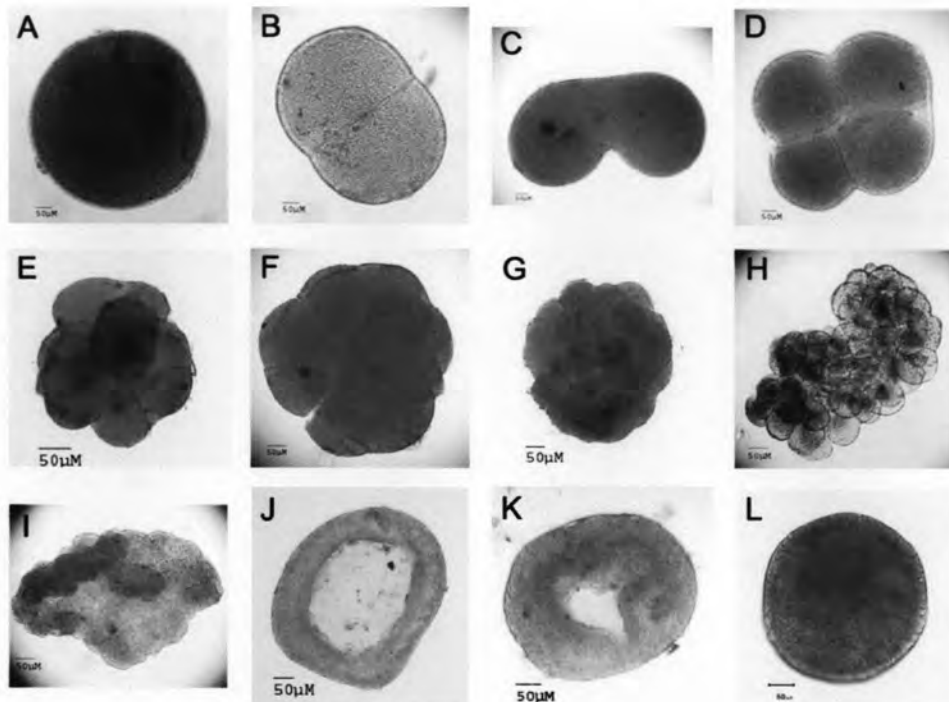
รูปที่ 3.9 พัฒนาการของไฮโคตปะการัง *Acropora humilis* (n = 30 – 50 เซลล์)

A: เซลล์ไข่ที่ได้รับการผสม; B: เริ่มแบ่งตัวครั้งแรก 0.5 ชั่วโมง; C: เริ่มแบ่งตัวครั้งที่ 2; D: ระยะ 4 เซลล์; E:

ระยะ 8 เซลล์; F-G: ระยะหลายเซลล์; H-I: เริ่มมีรูปร่างแบน; J-K: รูปร่างแบนคล้ายข้าวเกรียบ; L: ที่บริเวณ

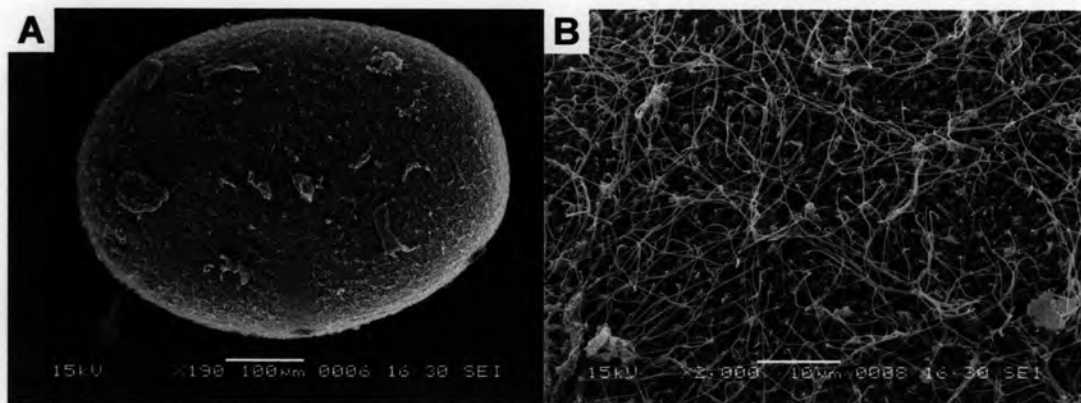
ขอบของกลุ่มเซลล์เริ่มมีวนเข้าหากัน; M: ระยะก่อนเป็นตัวอ่อนระยะว่ายน้ำมีรูปร่างกลม 24 ชั่วโมง; N: ตัวอ่อน

ว่ายน้ำระยะแรก 48 ชั่วโมง; O: ตัวอ่อนระยะว่ายน้ำ อายุ 4 วัน



รูปที่ 3.10 พัฒนาการของไซโกตปะการัง *Acropora millepora* โดยวิธีทางเนื้อเยื่อวิทยา (n = 30 – 50 เซลล์)

A: เซลล์ไซปะการังก่อนการแบ่งเซลล์; B-C: แบ่งเซลล์ครั้งแรก ระยะ 2 เซลล์; D-E: ระยะ 4-8 เซลล์; F-H: ระยะหลายเซลล์; I: ระยะเป็นแผ่นแบน; J: บริเวณขอบม้วนเข้าหากัน; K: กลับเป็นรูปทรงกลม; L: ตัวอ่อนระยะว่ายน้ำ อายุ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 3.11 ตัวอ่อนระยะว่ายน้ำของปะการัง *Acropora humilis* จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

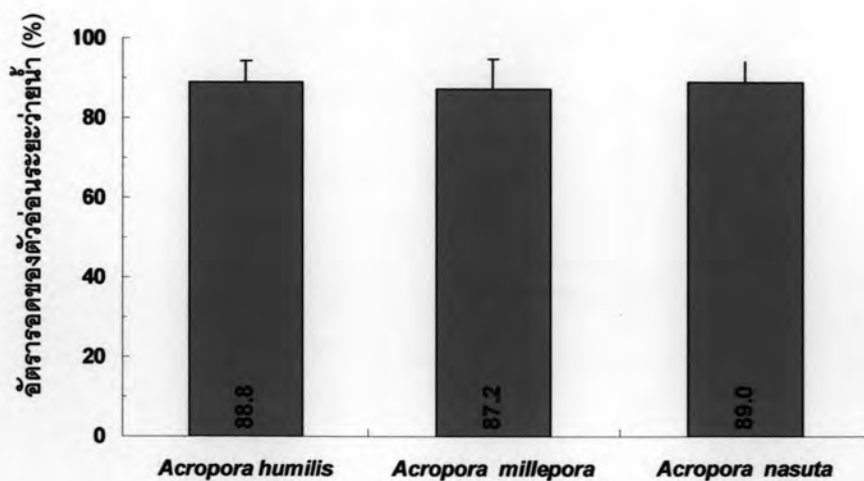
A: ตัวอ่อนปะการังระยะว่ายน้ำ และ B: ลักษณะของซีเลีย (cilia) ที่ตัวอ่อนใช้ในการว่ายน้ำ

ตารางที่ 3.1 ระยะเวลาหลังเซลล์สืบพันธุ์ปะการังมีพัฒนาการในแต่ละระยะ

	ระยะเวลาพัฒนาการ (ชั่วโมง)			
	<i>Acropora humilis</i>	<i>Acropora hyacinthus</i>	<i>Acropora millepora</i>	<i>Acropora nasuta</i>
ระยะ 2 เซลล์	0.5	1	2	2
ระยะ 4- 8 เซลล์	1	1	3	3
ระยะ 16- 64 เซลล์	2	2	4	4
ระยะหลายเซลล์	5	3	6	5
ระยะ prawn chip stage	8	8	8	8
ระยะก่อนว่ายน้ำ	13	13	13	14
ระยะว่ายน้ำเริ่มต้น	27	24	27	24
ระยะว่ายน้ำ	36	36	40	40
จำนวนตัวอ่อน (เซลล์)	35 - 65	36 - 75	25 - 50	29 - 50

3.2.2.2 อัตรารอดของตัวอ่อนระยะว่ายน้ำ

อัตรารอดของเซลล์ไข่ปะการัง 3 ชนิด ได้แก่ *Acropora humilis*, *Acropora millepora* และ *Acropora nasuta* ที่ได้รับการผสมจนเป็นตัวอ่อนระยะว่ายน้ำมีค่าไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 87.2 ถึง 89.0) (รูปที่ 3.12)

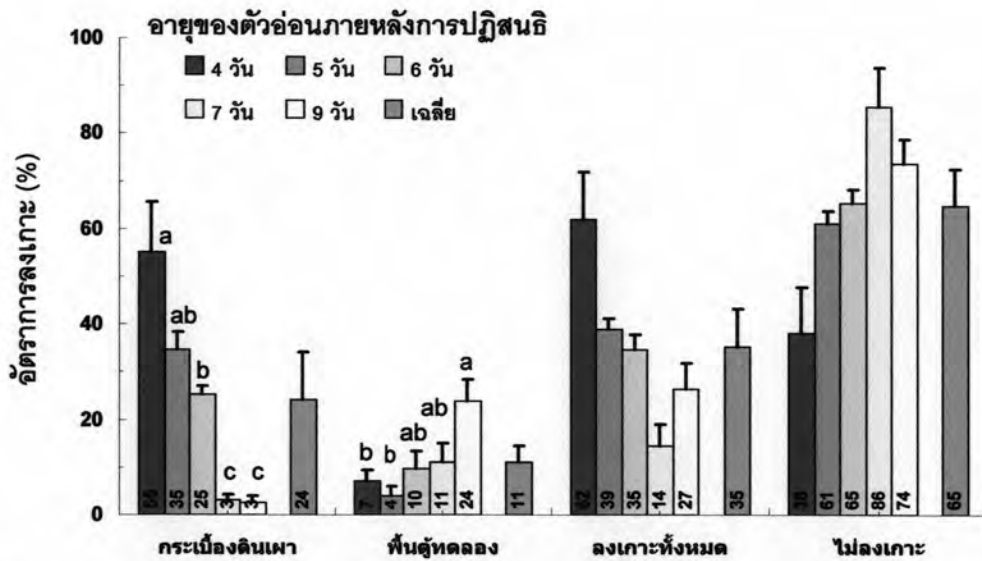


รูปที่ 3.12 อัตรารอดโดยเฉลี่ย (\pm S.E.) ของเซลล์ไข่ปะการัง *Acropora* ที่ได้รับการปฏิสนธิและพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะว่ายน้ำ ($n = 100$ ตัว \times 5 ซ้ำ)

3.2.3 ระยะการลงเกาะบนพื้นผิวของตัวอ่อนปะการัง

3.2.3.1 อายุของตัวอ่อนปะการังที่เหมาะสมในการลงเกาะบนพื้นผิว

ผลการศึกษาอายุของตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* ที่เหมาะสมภายหลังการปฏิสนธิ แสดงในรูปที่ 3.13 ภายหลังจากการศึกษาการลงเกาะเป็นเวลา 5 วัน พบอัตราการลงเกาะบนแผ่น กระเบื้องดินเผาสูงที่สุดที่ตัวอ่อนอายุ 4 วันหลังการปฏิสนธิ (ร้อยละ 55.0) และอัตราการลงเกาะ ลดลงเมื่อตัวอ่อนมีอายุมากขึ้น ทั้งนี้ พบตัวอ่อนจำนวนหนึ่งที่ลงเกาะบนพื้นตู้กระจก และอัตราการ ไม่ลงเกาะของตัวอ่อนปะการังที่มีอายุมากขึ้นสูงกว่าอัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังอายุ เท่ากันบนพื้นผิวกระเบื้อง ทั้งนี้ ขณะทำการทดลองอุณหภูมิของน้ำทะเลในตู้ทดลองมีค่าประมาณ 28 – 30 องศาเซลเซียส



รูปที่ 3.13 อัตราการลงเกาะโดยเฉลี่ย (\pm S.E.) ของตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* ที่มีอายุแตกต่างกันบนแผ่นกระเบื้องดินเผาซึ่งผ่านการแช่น้ำทะเลเป็นเวลา 2 เดือน (n = 40 – 50 ตัว x 5 ซ้ำ)

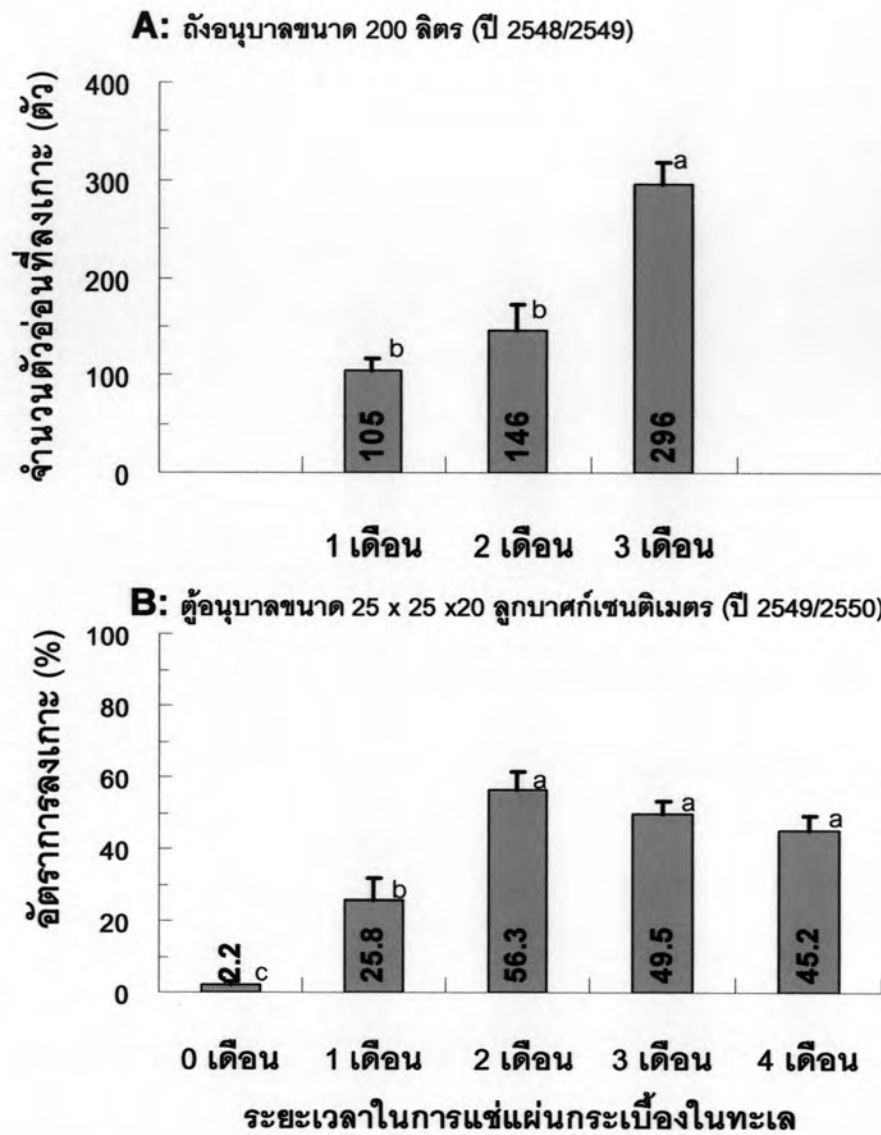
3.2.3.2 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่แผ่นกระเบื้องดินเผาในทะเลเพื่อให้เกิดสาหร่าย หินปูน

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่แผ่นกระเบื้องดินเผาในน้ำทะเลเป็นเวลา 1, 2 และ 3 เดือน ที่ให้ตัวอ่อนปะการังทำการลงเกาะ พบว่า การศึกษาในรอบปี 2548/2549 ในถังเพาะขยายพันธุ์ปะการัง *Acropora humilis* มีจำนวนตัวอ่อนปะการังมีการลงเกาะสูงที่สุด 296.1 ตัว บนแผ่นกระเบื้องดินเผาที่ผ่านการแช่ในทะเลเป็นเวลา 3 เดือน (รูปที่ 3.14 A) ขณะที่การศึกษาในตู้ทดลองขนาดเล็กในรอบปี 2549/2550 ไม่พบความแตกต่างของอัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังบนแผ่นกระเบื้องดินเผาที่ผ่านการแช่ในน้ำทะเลเป็นเวลา 2 – 4 เดือน (ร้อยละ 45.2 – 56.3) (รูปที่ 3.14 B) อย่างไรก็ตาม แผ่นกระเบื้องที่ไม่ผ่านการแช่น้ำทะเลมีการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังต่ำมาก (ร้อยละ 2.2) (รูปที่ 3.14 B)

3.2.3.3 อัตราและตำแหน่งที่เหมาะสมในการลงเกาะบนพื้นผิวของปะการัง

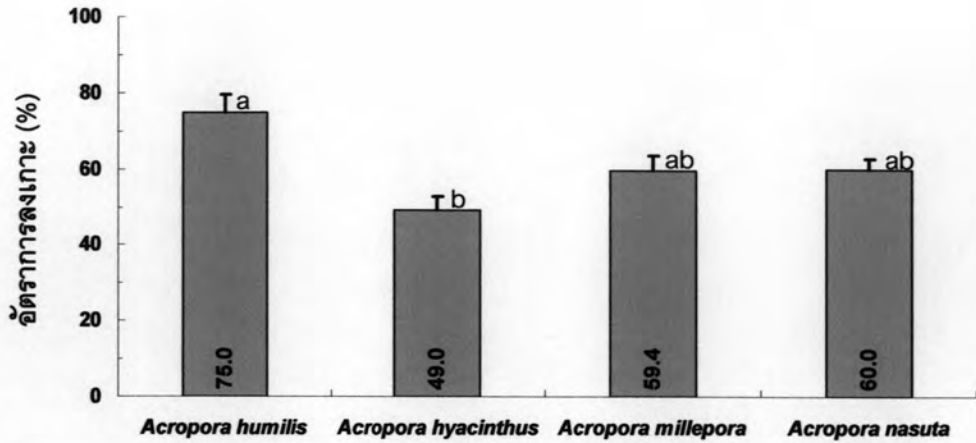
เมื่อเปรียบเทียบอัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังทั้ง 4 ชนิด (รูปที่ 3.15) พบว่าอัตราการลงเกาะบนแผ่นกระเบื้องดินเผาที่ผ่านการแช่น้ำทะเลเป็นเวลา 3 เดือนของปะการัง *Acropora humilis* มีค่าสูงสุดที่ ร้อยละ 75.0 ซึ่งไม่แตกต่างกับของปะการัง *Acropora millepora* และ *Acropora nasuta* อย่างไรก็ตาม อัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังทั้งสองนี้ไม่แตกต่างกับของปะการัง *Acropora hyacinthus* ที่มีอัตราการลงเกาะต่ำสุด ร้อยละ 49.0 เช่นกัน

สำหรับตำแหน่งในการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังบนส่วนต่างๆ ของแผ่นกระเบื้องดินเผา พบว่าตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* และ *Acropora nasuta* มีการลงเกาะที่ด้านล่างของแผ่นกระเบื้องมากที่สุดซึ่งแตกต่างจากส่วนอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 3.16) ขณะที่ตัวอ่อนปะการังอีกสองชนิดมีการลงเกาะในตำแหน่งต่างๆ ไม่ต่างกัน ทั้งนี้ อัตราการไม่ลงเกาะของปะการัง *Acropora humilis* มีค่าต่ำกว่าของปะการังชนิดที่มีค่าใกล้เคียงกัน (รูปที่ 3.16)

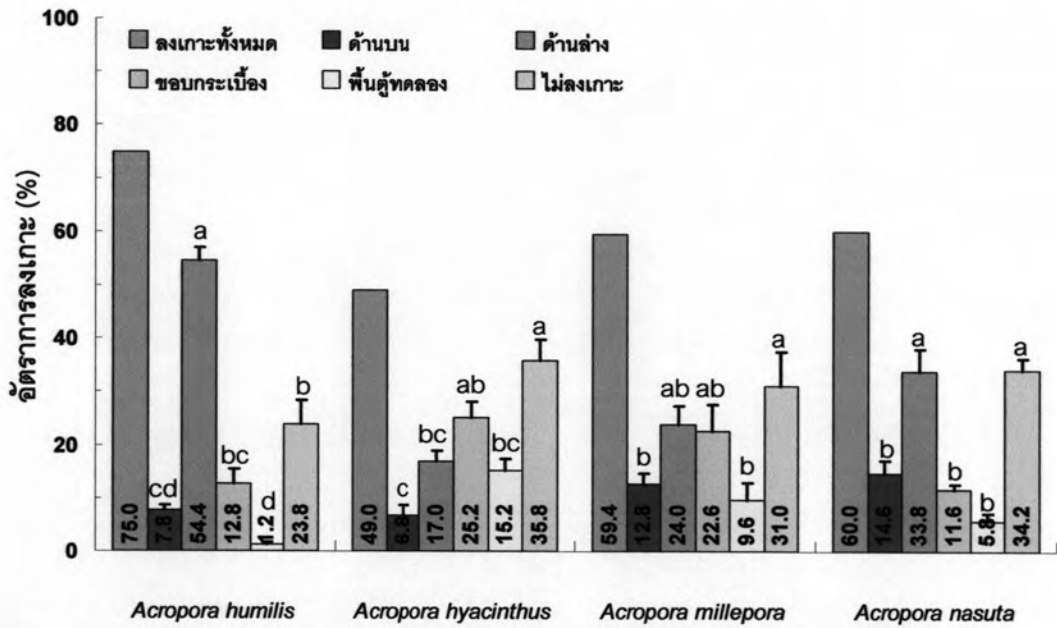


รูปที่ 3.14 ค่าเฉลี่ย (\pm S.E.) ของจำนวนและอัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* บนแผ่นกระเบื้องดินเผาซึ่งผ่านการแช่น้ำทะเลเป็นเวลาแตกต่างกันเพื่อให้เกิดสาหร่ายหินปูน

A: การทดลองในระบบเพาะขยายพันธุ์ปะการัง ปี 2548/2549 (n = จำนวนตัวอ่อน \times 5-12 แผ่น) และ B: การทดลองในตู้ทดลองขนาดเล็ก ปี 2549/2550 (n = 100 ตัว \times 2 แผ่น \times 6 ซ้ำ)



รูปที่ 3.15 อัตราการลงเกาะโดยเฉลี่ย (\pm S.E.) ของตัวอ่อนปะการัง *Acropora* ทั้ง 4 ชนิด บนแผ่นกระเบื้องดินเผาซึ่งผ่านการแช่น้ำทะเลเป็นเวลา 3 เดือน (n = 100 ตัว x 5 ซ้ำ)

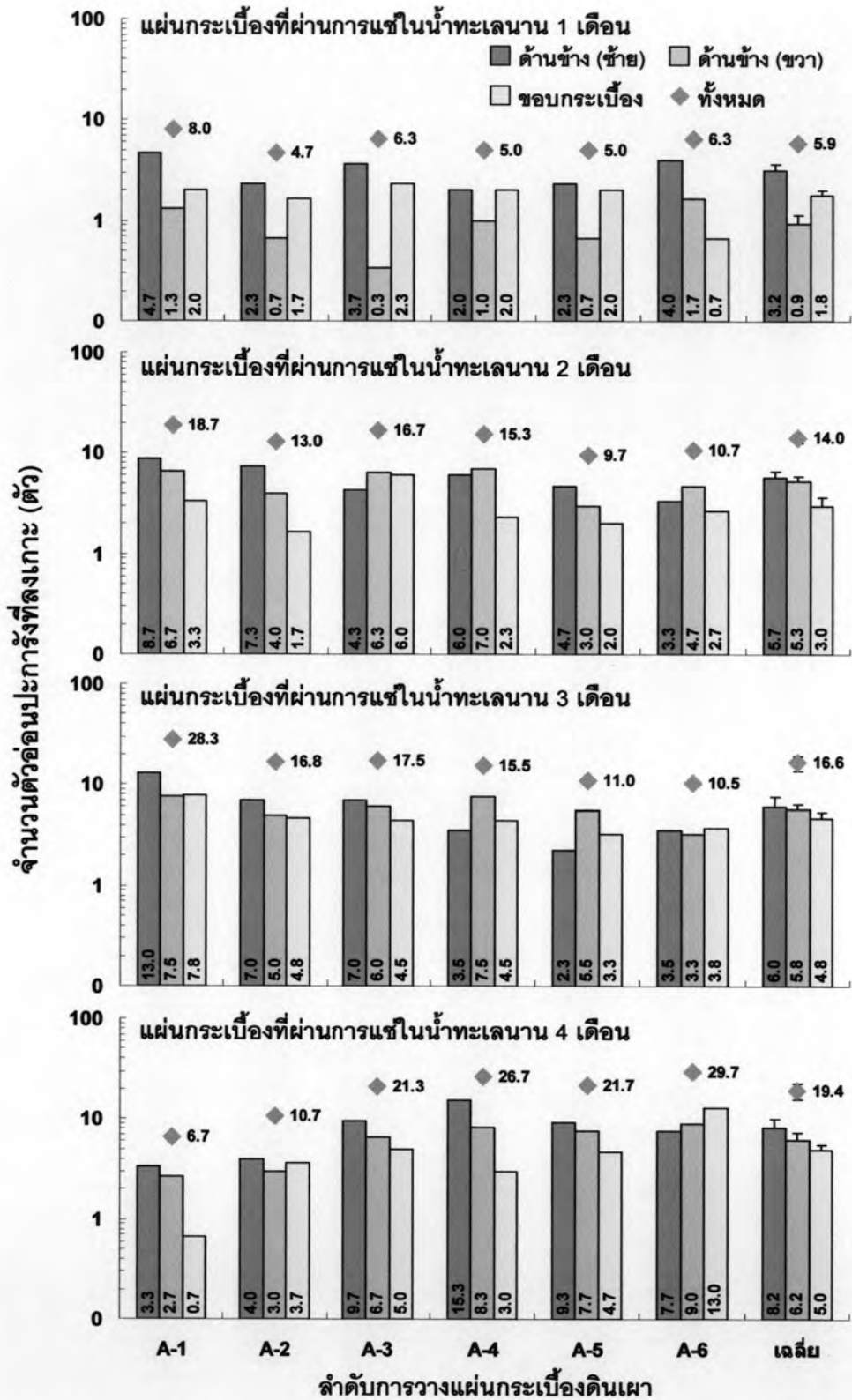


รูปที่ 3.16 อัตราการลงเกาะโดยเฉลี่ย (\pm S.E.) ของตัวอ่อนปะการัง *Acropora* ทั้ง 4 ชนิด บนตำแหน่งต่างๆ ของแผ่นกระเบื้องดินเผาซึ่งผ่านการแช่น้ำทะเลเป็นเวลา 3 เดือน (n = 100 ตัว x 5 ซ้ำ)

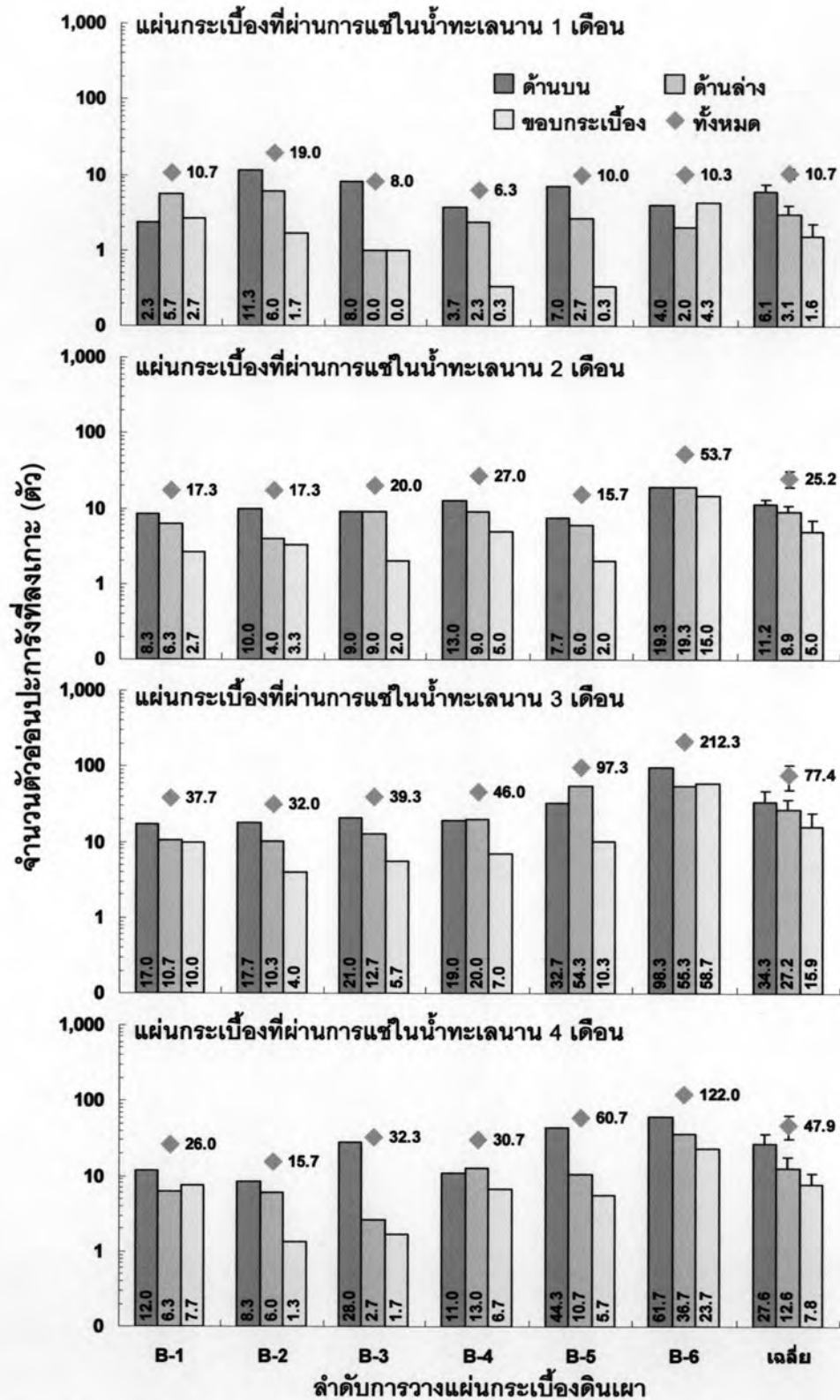
การศึกษาอัตราการงเกาะของตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* บนตำแหน่งต่างๆ ของแผ่นกระเบื้องดินเผาที่ผ่านการแช่ในน้ำทะเลเป็นระยะเวลาแตกต่างกัน ซึ่งวางเป็นแถวในลักษณะแนวตั้งและแนวนอนภายในถังอนุบาลแสดงในรูปที่ 3.17 – 3.18 ทั้งนี้ ได้ทำการแยกเปรียบเทียบผลความแตกต่างในแต่ละลักษณะเนื่องจากไม่พบความสัมพันธ์ของลักษณะการวางในแนวตั้งและแนวนอนของแผ่นกระเบื้องดินเผาดังกล่าว

ในกรณีการวางแผ่นกระเบื้องในแนวตั้ง (ตารางที่ 3.2) พบความแตกต่างของระยะเวลาในการแช่กระเบื้องดินเผาในน้ำทะเล 1 เดือน ต่ำกว่าระยะเวลา 2 – 4 เดือนอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความแตกต่างของการงเกาะของตัวอ่อนปะการังตามลำดับของแผ่นกระเบื้องที่วางจากซ้ายไปขวาของทุกระยะเวลาที่แช่ในน้ำทะเล ทั้งนี้ พบการงเกาะด้านข้างซ้ายของแผ่นกระเบื้องสูงสุด ซึ่งแตกต่างจากบริเวณขอบกระเบื้อง (ต่ำสุด) แต่ไม่แตกต่างจากด้านขวา

สำหรับการวางแผ่นกระเบื้องในแนวนอน (ตารางที่ 3.2) พบการงเกาะบนแผ่นกระเบื้องดินเผาที่ผ่านการแช่ในน้ำทะเล 3 เดือนสูงสุด ซึ่งแตกต่างจากระยะเวลาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้น พบการงเกาะของตัวอ่อนปะการังสูงสุดบนแผ่นกระเบื้องที่อยู่ตำแหน่งล่างสุดและด้านบนของแผ่นกระเบื้องดินเผา



รูปที่ 3.17 จำนวนตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* ที่ทำการลงเกาะบนตำแหน่งต่างๆ ของแผ่นกระเบื้องดินเผาที่ผ่านการแช่น้ำทะเลเป็นเวลาแตกต่างกันซึ่งวางในแนวตั้งเป็นแถว (n = 6 แผ่น x 3-4 แถว)



รูปที่ 3.18 จำนวนตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* ที่ทำการลงเกาะบนตำแหน่งต่างๆ ของแผ่นกระเบื้องดินเผาที่ผ่านการแช่น้ำทะเลเป็นเวลาแตกต่างกันซึ่งแขวนในแนวอนเป็นแถว (n = 6 แผ่น x 3-4 แถว)

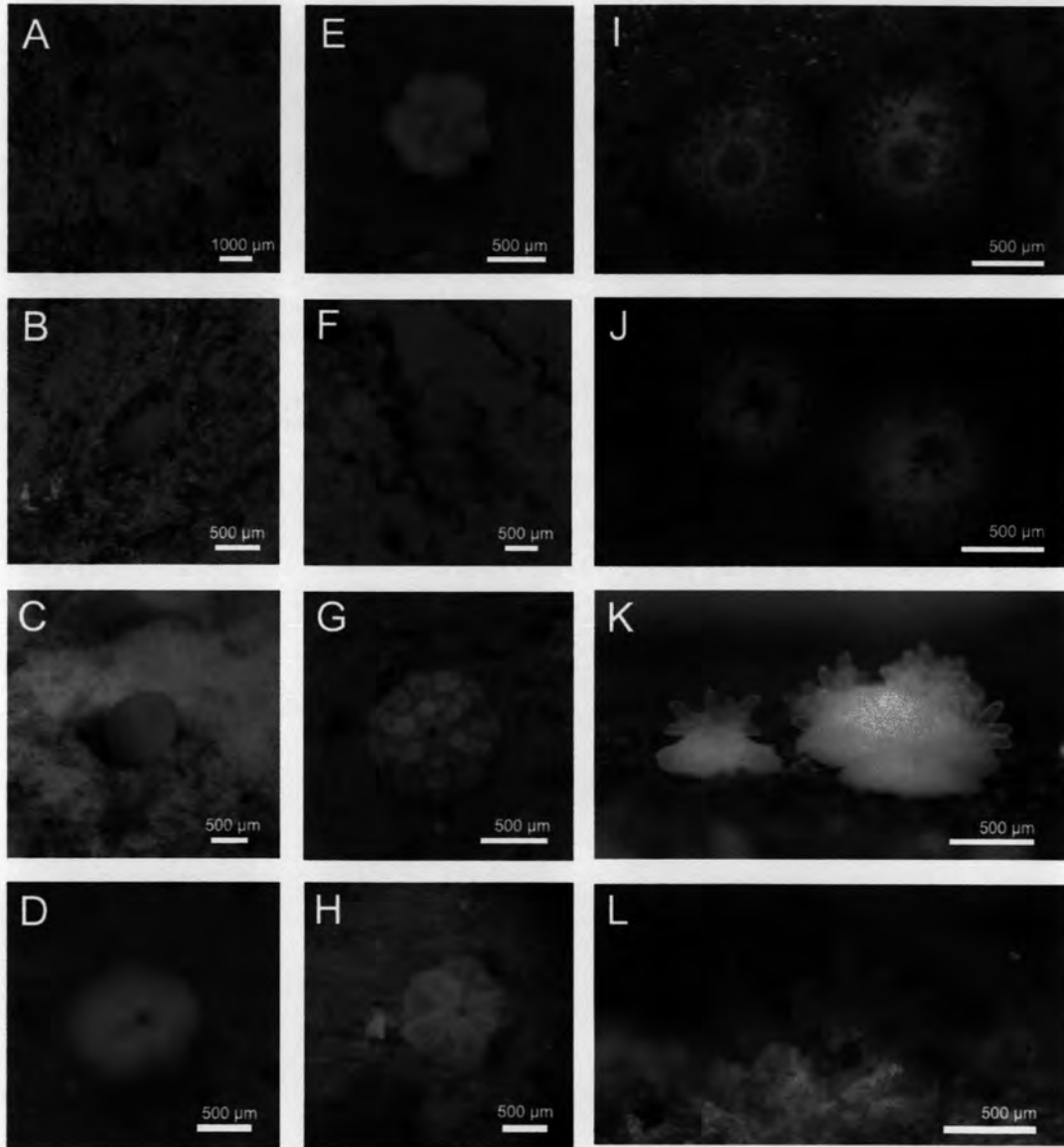
ตารางที่ 3.2 จำนวนตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* ที่ทำการลงเกาะบนตำแหน่งต่างๆ ของแผ่นกระเบื้องดินเผาที่ผ่านการแช่น้ำทะเลเป็นเวลาแตกต่างกัน

จำนวนตัวอ่อนปะการังที่ลงเกาะ (ตัว)									
การวางแผ่นกระเบื้องในแนวตั้ง				การวางแผ่นกระเบื้องในแนวนอน					
หัวข้อ	รวมทั้งหมด	เฉลี่ย (ต่อแผ่น)	± S.E.	หัวข้อ	รวมทั้งหมด	เฉลี่ย (ต่อแผ่น)	± S.E.		
ระยะเวลาที่ทำการแช่แผ่นกระเบื้องในทะเล									
1 เดือน	35.33	1.96	0.28	b	1 เดือน	64.33	3.57	0.72	c
2 เดือน	84.00	4.67	0.48	a	2 เดือน	151.00	8.39	1.26	c
3 เดือน	99.50	5.53	0.60	a	3 เดือน	464.67	25.81	5.91	a
4 เดือน	116.67	6.48	0.91	a	4 เดือน	287.33	15.96	3.92	b
ตำแหน่งบนแผ่นกระเบื้องที่ตัวอ่อนปะการังลงเกาะ									
ด้านซ้าย	138.92	5.79	0.71	a	ด้านบน	474.67	19.78	4.42	a
ด้านขวา	109.42	4.56	0.56	ab	ด้านล่าง	311.00	12.96	3.07	b
ขอบกระเบื้อง	87.17	3.63	0.53	b	ขอบกระเบื้อง	181.67	7.57	2.47	c
ลำดับการวางแผ่นกระเบื้อง									
A-1	61.58	5.13	1.05		B-1	91.67	7.64	1.25	b
A-2	45.08	3.76	0.60		B-2	84.00	7.00	1.37	b
A-3	61.83	5.15	0.69		B-3	99.67	8.31	2.51	b
A-4	62.50	5.21	1.16		B-4	110.00	9.17	1.81	b
A-5	47.33	3.94	0.74		B-5	183.67	15.31	5.21	b
A-6	57.17	4.76	1.00		B-6	398.33	33.19	8.56	a

3.2.3.4 พัฒนาการของตัวอ่อนปะการังระยะหลังการลงเกาะบนพื้นผิว

พฤติกรรมการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังเริ่มจากการสำรวจหาพื้นที่ที่เหมาะสมในการลงเกาะอย่างถาวร จากการติดตามพัฒนาการของปะการัง *Acropora humilis* ระยะดังกล่าว (รูปที่ 3.19) พบว่า หลังจากตัวอ่อนปะการังพบพื้นที่ที่เหมาะสม (รูปที่ 3.19 A) ปะการังใช้ด้านตรงข้ามของปากยึดเกาะกับพื้นผิว (รูปที่ 3.19 B) และเริ่มเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยการหดความยาวของลำตัวลงเป็นลักษณะแบนราบ (รูปที่ 3.19 C) จากนั้น จึงเริ่มพัฒนาส่วนที่เป็นช่องปาก (รูปที่ 3.19D) ซึ่งรูปร่างของตัวอ่อนระยะนี้ข้างแบนราบมาก สามารถสังเกตการแบ่ง mesentery เป็น 6 ส่วนตามแนวรัศมีรอบส่วนปาก (รูปที่ 3.19 E – F) และทำการแบ่งครั้งที่สองเป็น 12 mesentery (รูปที่ 3.19 G) ต่อไป ซึ่งจำนวนดังกล่าวเท่ากับจำนวนที่พบในปะการัง *Acropora* ทั่วไป ระยะนี้สามารถสังเกตปุ่มหนวดบริเวณรอบปากได้ (รูปที่ 3.19 H) และเป็นระยะที่มีลักษณะเหมือนกับปะการังที่ลงเกาะเรียบร้อยแล้ว ยกเว้น ยังไม่มีการสร้างโครงร่างแข็งซึ่งมีการสร้างขึ้นในระยะต่อมา (รูปที่ 3.19 I) จากนั้นจึงมีการพัฒนาโครงร่างที่สร้างขึ้นให้มีความซับซ้อนมากขึ้น (รูปที่ 3.19 J)

และกลายเป็นตัวอ่อนปะการังสีขาวที่ลงเกาะบนพื้นผิวอย่างสมบูรณ์ (รูปที่ 3.19 K) ซึ่งตัวอ่อนปะการัง *Acropora* เมื่อมีอายุประมาณ 2-3 สัปดาห์ จึงเริ่มมีการรับสาหร่ายซูแซนเทลลีจากมวลน้ำเข้ามาอยู่ภายในเนื้อเยื่อ (รูปที่ 3.19 L)



รูปที่ 3.19 พัฒนาการและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนปะการัง *Acropora humilis* หลังการลงเกาะบนพื้นผิว

A: ตัวอ่อนปะการังมีพฤติกรรมว่ายน้ำบริเวณพื้นล่างเพื่อหาพื้นที่เหมาะสมในการลงเกาะบนพื้นผิว; B: ทำการยึดเกาะกับพื้นผิวโดยการใช้ด้านตรงข้ามของปากสัมผัสและยึดติดกับพื้น; C: ลดความยาวลำตัวเป็นลักษณะแบนราบ; D: พัฒนาการส่วนของช่องปาก สังเกต mesentery ได้; E-F: ระยะ 6 mesentery; G: ระยะ 12 mesentery; H: พัฒนาการส่วนที่เป็นหนวดบริเวณรอบปาก; I: ทำการสร้างโครงร่างแข็ง; J: พัฒนาโครงร่างแข็งที่มีความซับซ้อนเพิ่มขึ้น; K: ระยะการลงเกาะที่สมบูรณ์ ไม่ปรากฏสาหร่ายซูแซนเทลลี (อายุ 1 สัปดาห์); L: ตัวอ่อนปะการังที่รับสาหร่ายซูแซนเทลลีจากมวลน้ำแล้ว (อายุ 1 เดือน)

3.3 วิจัยรณัผลการศึกษา

จากการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ในระบบเลี้ยง อัตราการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ของปะการังในหองปฏิบัติการมีค่ามากกว่าร้อยละ 90 เช่นเดียวกับการศึกษาของ Omori *et al.* (2001) การศึกษานี้ใช้ความหนาแน่นของสเปิร์มขณะปฏิสนธิประมาณ 10^6 ตัวต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับความหนาแน่นของสเปิร์มที่น้อยที่สุดที่ทำให้มีอัตราการปฏิสนธิที่สูงสุดซึ่งมีความเข้มข้นระหว่าง 10^5 – 10^6 ตัวต่อมิลลิลิตร (Oliver and Babcock, 1992; Willis *et al.*, 1997) ทั้งนี้ อัตราการปฏิสนธิในธรรมชาติขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของสเปิร์มขณะที่ปะการังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งค่าความหนาแน่นดังกล่าวของสเปิร์มมีค่าสูงสุดเฉพาะชั่วโมงแรก และลดลงอย่างรวดเร็วจากการเจือจางในน้ำทะเล ทำให้โอกาสในการปฏิสนธิต่ำ (Omori *et al.*, 2001) ดังนั้น การปฏิสนธิของตัวอ่อนในระบบเลี้ยงที่สามารถควบคุมความเข้มข้นของสเปิร์มได้ทำให้ได้ค่าที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม ความหนาแน่นของสเปิร์มที่มากเกินไปอาจส่งผลให้อัตราการปฏิสนธิต่ำเนื่องจากคุณภาพน้ำที่ต่ำลงอันเป็นผลจากการล้างเซลล์ไข่และสเปิร์มส่วนเกิน (Hatta *et al.*, 2004)

อัตราการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์ปะการังภายในโคโลนีเดียวกันซึ่งมีค่าต่ำกว่าร้อยละ 3 สอดคล้องกับการศึกษาของ Heyward and Babcock (1986), Harrison and Wallace (1990), Willis *et al.* (1997), Carlton (1999) และ Hatta *et al.* (2004) โดยเฉพาะในปะการังกลุ่ม *Acropora* มีโอกาสเกิดการผสมภายในโคโลนีต่ำ (Hatta *et al.*, 2004) ดังนั้น ผลกระทบที่เกิดจากการผสมภายในโคโลนีเดียวกันของปะการังขณะทำการเคลื่อนย้ายเซลล์สืบพันธุ์ไปยังระบบเลี้ยง (โรงเพาะขยายพันธุ์) จึงส่งผลกระทบต่อที่ต่ำมาก อย่างไรก็ตาม การเคลื่อนย้ายเซลล์สืบพันธุ์จากรรรมชาติมายังพื้นที่สำหรับอนุบาลควรปฏิบัติด้วยความระมัดระวัง

การติดตามพัฒนาการของปะการังเขากวางทั้ง 4 ชนิด พบว่าลักษณะของการพัฒนาเป็นไปในทิศทางเดียวกันทั้งหมด เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Hayashibara *et al.* (1997) และ Ball *et al.* (2002) ที่ทำการศึกษาในปะการังเขากวางชนิดเดียวกันหรือชนิดที่ใกล้เคียงกัน การแบ่งเซลล์ครั้งแรกเกิดขึ้นภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากที่เซลล์ไข่ของปะการังได้รับการปฏิสนธิ และมีการแบ่งตัวอย่างทวีคูณและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งชั่วโมงที่ 6 – 12 กลุ่มเซลล์เริ่มมีรูปร่างแบนและกลับมามีรูปร่างกลมอีกครั้งโดยการม้วนของบริเวณขอบกลุ่มเซลล์ หลังจากนั้น จึงเข้าสู่ระยะตัวอ่อนว่ายน้ำระยะแรก ในช่วงนี้ตัวอ่อนเริ่มมีการพัฒนาอวัยวะภายใน จนกระทั่ง

สามารถว่ายน้ำโดยการใช้น้ำที่เสียพัดโบกที่อายุประมาณ 2 วัน และพร้อมสำหรับการลงเกาะที่อายุประมาณ 3 – 4 วัน ทั้งนี้ ระยะเวลาที่ตัวอ่อนใช้ในการพัฒนาจนกระทั่งเปลี่ยนเป็นตัวอ่อนระยะว่ายน้ำมีความแตกต่างกันได้ ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในบริเวณนั้น (Ball *et al.*, 2002)

ขนาดของตัวอ่อนปะการังทั้ง 4 ชนิด ใกล้เคียงกัน ประมาณ 700 ไมโครเมตร ซึ่งจัดว่ามีขนาดที่ค่อนข้างใหญ่ ขนาดของตัวอ่อนนี้สามารถบ่งบอกได้ถึงปริมาณของอาหารและพลังงานที่สะสมในตัวอ่อนได้ (Marshall and Keough, 2003) ในขณะที่ตัวอ่อนปะการังดำรงชีวิตในระยะว่ายน้ำ พลังงานที่ใช้ในการดำรงชีวิตมาจากไขมันที่สะสมอยู่ภายในตัวอ่อนนั้น โดยปริมาณของไขมันที่สะสมในตัวอ่อนแตกต่างกันออกไปตามชนิดของปะการังส่งผลต่อลักษณะการดำรงชีวิตของตัวอ่อน อัตรารอดและการกระจาย ตัวอ่อนที่มีปริมาณไขมันสูงสามารถดำรงชีวิตในมวลน้ำได้นานส่งผลให้มีการกระจายออกไปได้ไกล (Zaslow and Benayahu, 1996) ส่วนตัวอ่อนที่มีปริมาณไขมันน้อยมีขอบเขตการกระจายที่แคบ เนื่องจากการลอยตัวในมวลน้ำไม่ดีและมีอาหารสะสมน้อย ระบบที่ใช้อนุบาลตัวอ่อนปะการังในการศึกษาคั้งนี้มีระดับอุณหภูมิของน้ำทะเลประมาณ 28 – 30 องศาเซลเซียส (ปกติ) ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่าการศึกษาอื่น (Hayashibara *et al.*, 1997; Ball *et al.*, 2002; Hatta *et al.*, 2004) อาจเป็นเหตุให้ตัวอ่อนมีพัฒนาการที่ค่อนข้างเร็วกว่า เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงทำให้ตัวอ่อนมีอัตราการเมตาบอลิซึมที่สูง (Nozawa and Harrison, 2002) อย่างไรก็ตาม หากอุณหภูมิของน้ำมีระดับสูงมากเกินไปอาจส่งผลให้เกิดการลงเกาะและเปลี่ยนแปลงรูปร่างก่อนกำหนดตัวอ่อนปะการังมีความพร้อมได้ (Edmunds *et al.*, 2001)

เมื่อตัวอ่อนปะการังพร้อมทำการลงเกาะ พฤติกรรมที่สังเกตได้ชัดเจนคือ อัตราการว่ายน้ำลดลง และเริ่มว่ายน้ำใกล้กับบริเวณผิวที่ทำการลงเกาะ มีการลงสัมผัสเพื่อสำรวจความเหมาะสมหรือสืบคลานบนพื้นผิว (Hayashibara *et al.*, 1997) เมื่อตัวอ่อนลงเกาะบนพื้นผิวที่ให้การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนเริ่มขึ้นเพื่อพัฒนาเป็นปะการังโดยสมบูรณ์ต่อไป

อัตราความสำเร็จในการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังมีความสัมพันธ์กับอายุของตัวอ่อน ซึ่งมีอัตราการลงเกาะลดลงเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น อายุที่เหมาะสมซึ่งให้อัตราการลงเกาะสูงสุดในการศึกษาคั้งนี้คือ 4 วันหลังจากการปฏิสนธิ สอดคล้องกับกับการศึกษาของ Morse *et al.* (1996) ในการศึกษาอัตราการลงเกาะของปะการัง *Acropora* 3 ชนิด ได้แก่ *Acropora uasata*, *Acropora digui* และ *Acropora tenuis* ซึ่งพบอัตราการลงเกาะสูงสุดที่อายุประมาณ 5 วัน และสามารถลงเกาะได้ถึงอายุ 16, 27 และ 29 วัน ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่า ถึงแม้ว่าตัวอ่อน

สามารถดำรงชีวิตและว่ายน้ำได้เป็นปกติเมื่อมีอายุมากขึ้น เนื่องจากยังคงมีพลังงานที่ได้มาจากไขมันที่สะสม แต่อาจสูญเสียความสามารถในการลงเกาะได้เมื่อมีอายุมากขึ้น เนื่องจากมีพลังงานที่จำเป็นในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการลงเกาะเหลือไม่เพียงพอ (Zaslow and Benayahu, 1996) โอกาสการลงเกาะและความสำเร็จในการลงเกาะจึงลดน้อยลง

ตัวอ่อนปะการังมีอัตราการลงเกาะลงบนพื้นผิวกระเบื้องดินเผาที่ประมาณ ร้อยละ 50 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Petersen *et al.* (2005) ขณะที่การศึกษาของ Negri *et al.* (2001) ที่ตัวอ่อนปะการังมีอัตราการลงเกาะสูงกว่า ร้อยละ 80 อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของอุณหภูมิน้ำ (Nozawa and Harrison, 2000; Ball *et al.*, 2002) และปัจจัยเฉพาะของพื้นที่ รวมถึงความแตกต่างกันของพื้นผิวในการลงเกาะ

การที่ตัวอ่อนปะการังมีอัตราการลงเกาะต่ำเมื่อใช้แผ่นกระเบื้องดินเผาที่ไม่ผ่านการแช่ในทะเลเป็นวัสดุในการลงเกาะ เนื่องจากขาดสารเหนียวนำตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญมากสำหรับสิ่งมีชีวิตหลายชนิดที่มีพฤติกรรมลงเกาะบนพื้นผิว พบว่า ตัวอ่อนปะการังและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิดอาศัยสารเหนียวนำที่พบร่วมกับสาหร่ายหินปูน (Morse *et al.*, 1988, 1994, 1996; Morse and Morse, 1991; Heyward and Negri, 1999; Negri *et al.*, 2001; Steinberg *et al.*, 2002) ดังนั้น การเตรียมวัสดุที่ใช้ในการลงเกาะให้สอดคล้องกับช่วงเวลาที่เหมาะสมมีความพร้อมจึงเป็นสิ่งสำคัญในการเพิ่มอัตราการลงเกาะให้สูงขึ้น ทั้งนี้ ระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่กระเบื้องดินเผาในการศึกษาครั้งนี้อยู่ที่ 2 – 3 เดือน ซึ่งแตกต่างกันตามพื้นที่ (Heyward *et al.*, 2002; Taniguchi, 2002; Harrison, 2006) เช่น การศึกษาในบริเวณโอกินาวา ประเทศญี่ปุ่นพบว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับแช่แผ่นกระเบื้องที่ใช้ในการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังที่หมู่เกาะโอกินาวา ประเทศญี่ปุ่น มีระยะเวลาจนถึง 1 ปี ในขณะที่จำนวนตัวอ่อนที่ลงเกาะมีค่าที่ลดลงที่กระเบื้องอายุ 4 เดือน (Hatta *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตาม การแช่แผ่นกระเบื้องในทะเลนานเกินไปอาจส่งผลให้สิ่งมีชีวิตบางชนิด เช่น หอยสองฝา เพรียงหิน เพรียงหัวหอม หรืออื่นๆ ลงเกาะบนแผ่นกระเบื้องมากเช่นกัน (Maida *et al.*, 1995) ดังนั้น การนำกระเบื้องเหล่านี้มาใช้ส่งผลให้คุณภาพของน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในระยะเริ่มลงเกาะที่ยังไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ซึ่งส่งผลให้อัตราการลงเกาะของตัวอ่อนลดลงเช่นกัน

การที่ตัวอ่อนปะการังส่วนใหญ่ลงเกาะในบริเวณด้านข้างและด้านล่างของแผ่นกระเบื้องเนื่องมาจาก พฤติกรรมตามธรรมชาติในการลงเกาะของตัวอ่อนปะการังมีความซับซ้อนมาก เช่น การลงเกาะตามซอก รอยแยก หรือรอยแตกของพื้นผิว (Lewis, 1974; Thongtham and

Chansang, 1999; Petersen *et al.*, 2005) เป็นผลมาจากพฤติกรรมการหนีแสงของตัวอ่อน (Lewis, 1984) ปัจจัยแวดล้อมทางกายภาพบางชนิด ทั้งความเข้มแสงที่มากเกินไป รวมถึงอุณหภูมิที่สูงส่งผลต่อพฤติกรรมการลงเกาะ โดยทำให้อัตราการลงเกาะของตัวอ่อนลดลงกว่าสภาวะปกติ (Suzuki and Hayashibara, 2006)

การอนุบาลตัวอ่อนปะการังจำนวนมากในถังเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ (300 ลิตร) อัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปะการัง (จำนวนตัวอ่อน/แผ่น) ของแผ่นกระเบื้องที่วางในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นกระเบื้องที่วางในแนวนอน โดยเฉพาะพบอัตราการลงเกาะสูงสุดที่กระเบื้องแผ่นล่างสุด เนื่องจากปัจจัยต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้นและพฤติกรรมของตัวอ่อน (Hayashibara *et al.*, 1997) ดังนั้น ในระบบเลี้ยงขนาดใหญ่ วิธีการวางกระเบื้องในแนวนอนเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จำนวนตัวอ่อนลงเกาะมากและประหยัดพื้นที่ในการเลี้ยง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อตัวอ่อนลงเกาะสมบูรณ์แล้ว มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเปลี่ยนกระเบื้องเป็นแนวตั้งเพื่อให้ตัวอ่อนได้รับแสงอย่างเพียงพอ

3.4 รายการอ้างอิง

ภาษาอังกฤษ

- Ball, E.E., D.C. Hayward, J.S. Reece-Hoyes, N.R. Hisop, G. Samuel, R. Saint, P.L. Harrison and D.J. Miller. 2002. Coral development: from classical embryology to molecular control. *International Journal of Developmental Biology* 46: 671-678.
- Carlson, D.B. 1999. The evolution of mating systems in tropical reef corals. *Trends in Ecology and Evolution* 14 (12): 491-495.
- Edmunds, P.J., R.D. Gates and D.F. Gleason. 2001. The biology of larvae the reef coral *Porites astreoides* and their response to temperature disturbances. *Marine Biology* 139: 981-989.
- Hatta, M., K. Iwao, H. Taniguchi and M. Omori. 2004. Restoration technology using sexual reproduction. *In* Manual for restoration and remediation of coral reefs. Edited by Omori., M. and S. Fujiwara. Nature Conservation Bureau. Ministry of the Environment. Japan. pp. 14-28.

- Harrison, P.L. 2006. Settlement competency periods and dispersal potential of scleractinian reef coral larvae. Proceedings of 10th International Coral Reef Symposium 78-82.
- Harrison, P.L. and C.C. Wallace. 1990. Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian coral. *In* Coral Reefs. Edited by Z. Dubinsky. Amsterdam: Elsevier, pp 133-207.
- Hayashibara, T., S. Ohike and Y. Kakinuma. 1997. Embryonic and larval development and planula metamorphosis of four gamete-spawning *Acropora* (Anthozoa, Scleractinia). Proceedings of 8th International Coral Reef Symposium 2: 1231-1236.
- Heyward, A.J. and R.C. Babcock. 1986. Self-and cross-fertilization in scleractinian corals. *Marine Biology* 90: 191-195.
- Heyward, A.J. and A.P. Negri. 1999. Natural inducers for coral larval metamorphosis. *Coral Reefs* 18: 273-279.
- Heyward, A.J., L.D. Smith, M. Rees and S.N. Field. 2002. Enhancement of coral recruitment by *in situ* mass culture of coral larvae. *Marine Ecology Progress Series* 230: 113-118.
- Lewis, J.B. 1974. The settlement behavior of planulae larvae of the hermatypic coral *Favia fragum* (Esper). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 15: 165-172.
- Maida, M., P.W. Sammarco and J.C. Coll. 1995. Effects of soft corals on scleractinian coral recruitment. I: directional allelopathy and inhibition of settlement. *Marine Ecology Progress Series* 121: 191-202.
- Marshall, D.J. and M.J. Keough. 2003. Variation in the dispersal potential of non-feeding invertebrate larvae: the desperate larva hypothesis and larval size. *Marine Ecology Progress Series* 255: 145-153.
- Morse, A.N.C., K. Iwao, M. Baba, K. Shimoike, T. Hayashibara and M. Omori. 1996. An ancient chemosensory mechanism brings new life to coral reefs. *Biological Bulletin* 191: 149-154.

- Morse, D.E., N. Hooker, A.N.C. Morse and R.A. Jensen. 1988. Control of larval metamorphosis and recruitment in sympatric agariciid corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 116: 193-217.
- Morse, D.E. and A.N.C. Morse. 1991. Enzymatic characterization of the morphogen recognized by *Agaricia humilis* (scleractinian coral) larvae. *Biological Bulletin* 181: 104-122.
- Morse, D.E., A.N.C. Morse, P.T. Raimondi and N. Hooker. 1994. Morphogen-based chemical flypaper for *Agaricia humilis* (scleractinian coral) larvae. *Biological Bulletin* 181:104-122.
- Negri, A.P., N.S. Webster, R.T. Hill and A.J. Heyward. 2001. Metamorphosis of broadcast spawning corals in response to bacteria isolated from crustose algae. *Marine Ecology Progress Series* 223: 121-131.
- Nozawa, Y. and P.L. Harrison. 2002. Larval settlement patterns, dispersal potential, and the effect of temperature on settlement of larvae of the reef coral, *Platygyra deadalea*, from the Great Barrier Reef. *Proceedings of the 9th International Coral Reef Symposium* 1: 409-415.
- Oliver, J.K. and R.C. Babcock. 1992. Aspects of the fertilization ecology of broadcast spawning corals: sperm dilution effects and *in situ* measurements of fertilization. *Biological Bulletin* 183: 409-417.
- Omori, M., H. Fukami, H. Kobinata and M. Hatta. 2001. Significant drop of fertilization of *Acropora* corals in 1999: an after-effect of heavy coral bleaching?. *Limnology and Oceanography* 46 (3): 704-706.
- Petersen, D., M. Laterveer and H. Schuhmacher. 2005. Spatial and temporal variation in larval settlement of reefbuilding corals in mariculture. *Aquaculture* 249: 317-327.
- Steinberg, P.D., R.D. Nys and S. Kjelleberg. 2002. Chemical cues for surface colonization. *Journal of Chemical Ecology* 28 (10): 1935-1951.
- Suzuki G. and T. Hayashibara. 2006. Inhibition of settlement and metamorphosis in *Acropora* (Anthozoa, Scleractinia) larvae by high-intensity light. *Proceedings of 10th International Coral Reef Symposium* 1627-1630.

- Taniguchi, H. 2002. Study on seeding production of hermatypic coral : examination of conditions for intermediate rearing. Abstracts of 5th Symposium of the Japanese Coral Reef Society: 19. (in Japanese)
- Thongtham, N. and H. Chansang. 1999. Influence of surface complexity on coral recruitment at Maiton island, Phuket, Thailand. Phuket Marine Biological Center Special Publication 20: 93-100.
- Willis, B.L., R.C. Babcock, P.L. Harrison and C.C. Wallace. 1997. Experimental hybridization and breeding incompatibilities within the mating system of mass spawning reef corals. Coral Reefs 16: s53-s65.
- Zaslow, R.B. and Y. Benayahu. 1996. Longevity, competence and energetic content in planulae of the soft coral *Heteroxenia fuscescens*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 206: 55-68.