

## วิธีดำเนินการวิจัย (Materials & Method)

### 1. การเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

เก็บตัวอย่างจากธรรมชาติบริเวณหมู่เกาะแสมสารทั้งสิ้น 4 ครั้ง คือ 12 กุมภาพันธ์ , 12 มีนาคม , 25 เมษายน 2556 และ 27 มิถุนายน ซึ่งตัวอย่างที่นำเข้ามาต้องนำมาปรับสภาพภายในระบบที่เตรียมไว้โดยให้โพลีปรีนเป็นปกติเพื่อให้มีสภาพพร้อมแก่การทดลอง

### 2. ระบบที่ใช้ในการทดลอง

ระบบที่ใช้ในการทดลอง ใช้ระบบการเลี้ยงของโรงเรือนสาธิตซึ่งเป็นระบบเลี้ยงแบบปิด ที่มีสาหร่ายบำบัด โดยถังที่ใช้เลี้ยง คือ ถังไฟเบอร์ขนาดปริมาตร 2 ลูกบาศก์เมตร ทั้งสิ้น 2 ถัง โดยมีทางน้ำเข้าอยู่ทางด้านบนและทางน้ำออกอยู่ทางด้านท้ายของถังถึง ระดับความลึกของน้ำ 50 เซนติเมตร

### 3. วิธีการทดลอง

แบบการทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลองเปรียบเทียบกันคือ

แบบที่ 1 ขนาดความยาวของโคลนนี้เท่ากับ 1 เซนติเมตร แบ่งการวางออกเป็น 2 แบบ คือ การวางในแนวตั้ง และการวางในแนวนอน แบบละ 60 โคลนนี้ รวม ซ้ำละ 20 โคลนนี้ ทั้งสิ้น 3 ซ้ำรวมแบบที่ 1 ทั้งสิ้น 120 โคลนนี้

แบบที่ 2 ขนาดความยาวของโคลนนี้เท่ากับ 2 เซนติเมตร แบ่งการวางออกเป็น 2 แบบ คือ การวางในแนวตั้ง และการวางในแนวนอน แบบละ 60 โคลนนี้ รวมซ้ำละ 20 โคลนนี้ ทั้งสิ้น 3 ซ้ำรวมแบบที่ 2 ทั้งสิ้น 120 โคลนนี้

แบบที่ 3 ขนาดความยาวของโคลนนี้เท่ากับ 3 เซนติเมตร แบ่งการวางออกเป็น 2 แบบ คือ การวางในแนวตั้ง และการวางในแนวนอน แบบละ 60 โคลนนี้ รวมซ้ำละ 20 โคลนนี้ ทั้งสิ้น 3 ซ้ำรวมแบบที่ 3 ทั้งสิ้น 120 โคลนนี้

#### การเตรียมตัวฐานที่ใช้ในการทดลอง

โดยใช้แผ่นอะคริลิกใส กว้าง\*ยาว เท่ากับ 5\*8 เซนติเมตร และกาวไซยาโนอะครีเลทที่ใช้ในการติดวิธีการติดปะการังเข้ากับตัวฐานคือ ติดปะการัง ขนาดความยาวของโคลนนี้เท่ากับ 1,2 และ 3 เซนติเมตร ขนาดความกว้างเท่ากับ 0.5-1 เซนติเมตร พร้อมทั้งซึ่งขนาดน้ำหนัก ความยาวพร้อมกับหยดกาวลงตามจุดที่ทำสัญลักษณ์ไว้หยิบชิ้นส่วนชิ้นมาซึบกับผ้าขนหนูให้ตัวปะการังเกือบแห้ง แล้วติดลงบนแผ่นอะคริลิกที่เตรียมไว้ รอให้แห้งประมาณ 10 วินาที พร้อมกับตรวจสอบว่าปะการังติดกับฐานแล้ว หลังจากนั้นซึ่งน้ำหนักรวมอีกครั้งเมื่อทำการติดตัวปะการังเข้ากับฐานเรียบร้อยแล้ว ถ่ายรูป เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้เนื้อเยื่อที่ติดผสานกับตัวฐานและปรับสภาพก่อนการทดลอง

### การดูแลระหว่างการทดลอง

ทำการนับจำนวนอัตราการรอดในทุกชุดการทดลองทุกวัน พร้อมทั้งทำการดูตะกอนก้นถังเลี้ยง ทำความสะอาดตัวฐานเพื่อไม่ให้เป็นการรบกวนการเจริญเติบโตของตัวปะการัง

#### การวัดอัตราการเจริญเติบโตและเก็บข้อมูลระหว่างการทดลอง

1. เมื่อเริ่มต้นการทดลอง ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาว วัดเส้นผ่าศูนย์กลาง ถ่ายภาพทุก โคลนินเพื่อนำไปเปรียบเทียบกับน้ำหนัก ความยาวเริ่มต้น ต่อพื้นที่ผิวของปะการังเป็น ตารางเซนติเมตร ทุก 1 เดือน จนสิ้นสุดการทดลองที่ 4 เดือน
2. ในระหว่างการทดลอง จะทำการบันทึกจำนวนของปะการังที่ตายในแต่ละวัน
3. การวัดการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น ด้วยวิธีการนับโคลนินในแต่ละเดือน จำนวนซ้ำละ 3 โคลนิน (แบบการวางละ 9 โคลนิน) นำตัวอย่างปะการังมาทำความสะอาดด้วยสารละลาย sodium hypochlorite เพื่อกำจัดเนื้อเยื่อปะการังออกจากหินปูน ทำการนับจำนวนโพลิปที่เพิ่มขึ้นมาใหม่ เพื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาพื้นที่ที่เพิ่มขึ้นของตัวอย่างปะการัง
4. การวัดการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น ด้วยวิธีการหาพื้นที่ผิวด้วยวิธี Wax coating (Naumann, M S, Niggel, W, Laforsch, C, Glaser, C, Wild, C (2009) , Vytopil, E & Willis, BL (2001) , Stimson, J & Kinzie, RA (1991) จำนวนซ้ำละ 3 โคลนิน (แบบการวางละ 9 โคลนิน) โดยนำตัวอย่างปะการังที่ล้างเนื้อเยื่อออกจากหินปูนเรียบร้อยแล้ว นำมาตากลมให้แห้ง แล้วเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ก่อนนำมาจุ่มใน Paraffin wax เตรียม พาราฟินโดยใส่ในบีกเกอร์แก้วขนาด 1 ลิตร ที่ตั้งอยู่ในหม้อ โดย ต้มน้ำในหม้อให้มีความ ร้อน 55-57 องศาเซลเซียส เพื่อให้พาราฟินหลอมละลายทำการชั่งตัวอย่างปะการังก่อน ทำการจุ่ม ทำการจุ่มตัวอย่างปะการังลงในบีกเกอร์ที่มีพาราฟินละลายอยู่ ประมาณ 2 วินาที แล้วยกออกนำมาพักให้พาราฟินเย็นลง ประมาณ 5 นาที จึงทำการจุ่มครั้งที่ 2 โดยใช้เวลาจุ่ม ประมาณ 5 วินาที แล้วพักให้พาราฟินเย็นตัวลงอีกครั้งประมาณ 5 นาที แล้วจึงนำไปชั่งน้ำหนัก เพื่อหาน้ำหนักพาราฟินที่เกาะติดกับตัวอย่างปะการัง

#### การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำ

ตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำทุก 7 วัน ดังนี้ คือ ความเป็นกรด-ด่าง (Hach-senION2) อุณหภูมิ (Hach-senION2) ความเค็ม (Salino-refractometer ATAGO รุ่น S/mill-E) ความเป็นด่าง (Alkalinity) ด้วยการไตเตรตกับสารละลายกรดมาตรฐาน (APHA, 1980) ความกระด้าง (Applied form Standard Method ) ปริมาณแอมโมเนียรวม ด้วยวิธี Phenolhypochlorite (Solorzano, 1980) ไนโตรต-ไนโตรเจน ด้วยวิธี Azo dye และไนเตรต-ไนโตรเจนด้วยวิธี Cadmium-reduction (Strickland and Parson, 1977) ทุก 2 สัปดาห์

### การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการผลิต และการเจริญเติบโตระหว่างชุดทดลอง โดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test, DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ