

เอกสารประกอบ 2

เรื่อง

พัฒนาการเบื้องต้นของไข่ การเติบโต
และการสร้างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
ของทากเปลือย *Jorunna funebris* Kelaart, 1858

Egg Development, Growth and Bioactive
Compounds Producing of Nudibranch,
Jorunna funebris Kelaart, 1858

พื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช
อันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

รายงานผลการดำเนินงาน
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2553

โครงการวิจัยย่อย
การอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

พัฒนาการเบื้องต้นของไข่ การเติบโต และการสร้างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
ของทากเปลือย *Jorunna funebris* Kelaart, 1858

Egg Development, Growth and Bioactive Compounds Producing of
Nudibranch *Jorunna funebris* Kelaart, 1858

ในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

คณะผู้ดำเนินงาน

รองศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิทยกาญจน์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2553 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ ผู้ร่วมงานทุกท่าน โดยเฉพาะ นางสาวนลินี รัชมีธรรมาธิกุล นางสาวทิษัมพร เกริกไกรกุล นางสาววิภาดา ลลิตภัทรกิจ นายเสฐ์ ทรงพลอย นายปฐมพร เกื้อนุ้ย และ อาจารย์ ดร. อุดมศักดิ์ ดรุมาศ ที่ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงาน ทั้งในภาคสนามและในห้องปฏิบัติการเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

ทำการศึกษากิจกรรมการกินอาหารและการเติบโตของทากเปลือย *Jorunna funebris* โดยให้ฟองน้ำสีเงิน *Xestospongia* sp. เป็นอาหาร และทำการศึกษความสัมพันธ์ในการผลิตสารทุติยภูมิของทากเปลือยกับฟองน้ำดังกล่าว ผลการศึกษาพบว่า ทากเปลือย *Jorunna funebris* มีพฤติกรรมที่เจาะจงในการเลือกฟองน้ำ *Xestospongia* sp. เป็นอาหาร โดยทากเปลือย *Jorunna funebris* กลุ่มที่มีขนาดเล็กมีอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักต่อวันสูงสุด (ร้อยละ 8.8 ต่อวัน) ขณะที่กลุ่มขนาดกลางมีอัตราการเติบโตโดยความยาวสูงสุด (ร้อยละ 3.6 ต่อวัน) โดยที่ทากเปลือยดังกล่าว สามารถกินอาหารได้ทั้งเวลากลางวันและกลางคืน นอกจากนี้ พบความสัมพันธ์ในการผลิตสาร renieramycin M ของทากเปลือย *Jorunna funebris* กับที่พบในฟองน้ำ *Xestospongia* sp. ที่เป็นอาหาร เมื่อทากเปลือยอยู่ในภาวะไม่ได้รับอาหาร ปริมาณความเข้มข้นของสารดังกล่าวมีค่าลดลงอย่างชัดเจน และพบว่ามีความสัมพันธ์กันกับทากเปลือยดังกล่าวที่ได้รับอาหารแต่เลี้ยงภายในตะกร้าปิดแขวนในทะเล อย่างไรก็ตาม เมื่อนำทากเปลือย *Jorunna funebris* มาเลี้ยงในระบบปิด พบว่ามีอัตราการตายสูง และไม่มีการผลิตสาร renieramycin M ในทากเปลือยที่รอดชีวิต ปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์พบว่า สาร renieramycin ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิซึ่งสกัดได้จากทากเปลือย *Jorunna funebris* มีฤทธิ์ในการต่อต้านเซลล์มะเร็ง

คำสำคัญ : ทากเปลือย *Jorunna funebris* พฤติกรรมการกินอาหาร สารทุติยภูมิ สาร renieramycin M

Abstract

Feeding preference and growth of the nudibranch, *Jorunna funebris*, fed on the blue sponge, *Xestospongia* sp. were conducted. In addition, the relationship between the secondary chemical substances found in the nudibranch and its food source were investigated. The results showed that *Jorunna* was a prey-specific nudibranch fed only on *Xestospongia* sp. The growth rate experiments showed that the small size class of *Jorunna* had the highest daily weight gained (8.8% per day) while the medium size class had the highest daily length gained (3.6% per day). Moreover, the 12 and 24-hour feeding rate experiments showed that *Jorunna* fed both during the day and night. The chemical analysis showed that there was a relationship between the secondary chemical substance, renieramycin M, found in *Jorunna* and the chemical substance found in its sponge food source. When *Jorunna* was starved and was not allowed to feed on *Xestospongia*, the content of renieramycin M in the foot muscle of *Jorunna* decreased significantly. *Jorunna* fed on sponges in confined basket cage showed the same trend. However, most of them that raised in the closed system showed high mortality and did not produced renieramycin M at all. Recently, scientists also found that the renieramycins from *Jorunna* can exhibit potent cytotoxic activity against cancer cells.

Keyword : nudibranch, *Jorunna funebris*, feeding preference, secondary chemical substance, renieramycin M

สารบัญเรื่อง

ชื่อเรื่อง พัฒนาการเบื้องต้นของไข่ การเติบโต และการสร้างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของ
ทากเปลือย *Jorunna funebris* Kelaart, 1858

กิตติกรรมประกาศ.....	i
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
สารบัญเรื่อง	iv
สารบัญรูป	v
สารบัญตาราง	vi
บทนำ	2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
วัตถุประสงค์	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
วิธีดำเนินการศึกษา	6
ผลการศึกษา	7
สรุปและวิจารณ์ผล	11
เอกสารอ้างอิง	13

สารบัญรูป

รูปที่ 1.	ลักษณะของพัฒนาการหลังการเพาะฟักของไข่ทากเปลือย <i>Jorunna funebris</i>	9
รูปที่ 2.	การเติบโตเฉลี่ย (\pm S.D) โดยน้ำหนัก (A) และ ความยาว (B) ของทากเปลือย <i>Jorunna funebris</i> ที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงด้วยฟองน้ำ <i>Xestospongia</i> sp. เป็นเวลา 7 วัน	10
รูปที่ 3.	อัตราการเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (\pm S.D) โดยน้ำหนักและความยาวของทากเปลือย <i>Jorunna funebris</i> ที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงด้วยฟองน้ำ <i>Xestospongia</i> sp. เป็นเวลา 7 วัน	10
รูปที่ 4.	ปริมาณและอัตราการกินฟองน้ำเฉลี่ย (\pm S.D) ในเวลากลางวันและกลางคืนของ ทากเปลือย <i>Jorunna funebris</i> ที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	10
รูปที่ 5.	ความเข้มข้นของสาร renieramycin M เฉลี่ย (\pm S.D) ของทากเปลือย <i>Jorunna funebris</i> เมื่อไม่ได้รับ (A) และได้รับ (B) ฟองน้ำ <i>Xestospongia</i> sp. เป็นอาหารเป็นเวลา 7 วัน และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ	11

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1. พัฒนาการหลังการเพาะฟักของไข่தாகเปลือย <i>Jorunna funebris</i>	8
---	---

ชื่อเรื่อง (ไทย) พัฒนาการเบื้องต้นของไข่ การเติบโต และการสร้างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของทากเปลือย *Jorunna funebris* Kelaart, 1858
(อังกฤษ) Egg Development, Growth and Bioactive Compounds Producing of Nudibranch *Jorunna funebris* Kelaart, 1858

ชื่อคณะผู้วิจัย

1) หัวหน้าโครงการ

ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวสุชานา ชวนิชย์
(ภาษาอังกฤษ) Ms. Suchana CHAVANICH
คุณวุฒิ Ph.D. (Zoology), University of New Hampshire, U.S.A.
ตำแหน่งทางวิชาการ รองศาสตราจารย์
สถานที่ทำงาน ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 02 218 5394, 5401
โทรสาร 02 255 0780
E-mail suchana.c@chula.ac.th

2) ผู้ร่วมวิจัย

ชื่อ (ภาษาไทย) นายวรรณพ วิทยกาญจน์
(ภาษาอังกฤษ) Mr. Voranop VIYAKARN
คุณวุฒิ Ph.D. (Fisheries Science), Tokyo University of Fisheries, JAPAN
ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
สถานที่ทำงาน ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์ 02 218 5399, 5401
โทรสาร 02 255 0780
E-mail voranop.v@chula.ac.th

บทนำ

ทากเปลือย (nudibranchs) เป็นสัตว์ทะเลจำพวกหอย (Phylum Mollusca) ในกลุ่มหอยฝาเดียว (Class Gastropoda) ที่ไม่มีเปลือกแข็งห่อหุ้มลำตัว ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการทางวิวัฒนาการของหอยในกลุ่มนี้ที่ลดรูปของเปลือกแข็งเหลือเพียงแมนเทิล (mantle) ที่มีสีสันทึบหลากหลายและสวยงาม ทากเปลือยมีส่วนใหญ่ขนาดเล็ก เคลื่อนที่ช้า ดำรงชีวิตอยู่บริเวณพื้นท้องทะเล ทั้งในแนวปะการัง แหล่งหญ้าทะเล หรือบริเวณพื้นทราย ใต้ก้อนหิน บนซากปะการัง เป็นต้น สีสันทึบหลากหลายและสวยงามนี้เป็นหนึ่งในกลไกการดำรงชีวิตในการแสดงตัว รวมทั้งข่มขู่ศัตรูในธรรมชาติ และยังเป็นสิ่งดึงดูดนักท่องเที่ยวและนักถ่ายภาพได้น้ำหาโอกาสสัมผัส ซึ่งส่งผลให้ทากเปลือยถูกจับเพื่อนำมาขายในตลาดปลาสวยงามมากขึ้น นอกจากความสวยงามแล้ว ทากเปลือยเป็นสัตว์ทะเลอีกกลุ่มหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจอย่างยิ่งในด้านการแพทย์ เนื่องจากมีการผลิตสารทุติยภูมิขึ้นสะสมในร่างกาย โดยที่สารดังกล่าวในทากเปลือยบางชนิดมีศักยภาพในการนำไปสกัดเป็นยาบำบัดหรือรักษาโรคได้ เช่น ทากเปลือย *Jorunna funebris* ที่พบกระจายทั่วไปในน่านน้ำไทย ทากเปลือยชนิดนี้สามารถผลิตสารเคมีกลุ่ม jorumycin และ renieramycin ที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและมะเร็งบางชนิด ความสำคัญเหล่านี้ ส่งผลให้ทรัพยากรทากเปลือยในธรรมชาติมีแนวโน้มถูกนำไปใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้นและจำนวนประชากรอาจลดลงอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ หากขาดการจัดการทรัพยากรที่เหมาะสม

การศึกษาทากเปลือยในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการกระจายและอนุกรมวิธาน การศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาชีววิทยาเบื้องต้นของทากเปลือย *Jorunna funebris* โดยเน้นชีววิทยาการสืบพันธุ์เพื่อนำไปสู่การเพิ่มจำนวนประชากรในระบบเลี้ยงที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไปในอนาคต อันเป็นการจัดการทรัพยากรโดยการใช้ประโยชน์ให้มีคุณค่าและยั่งยืน รวมถึงลดผลกระทบที่เกิดจากการทำลายทรัพยากรและสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติด้วย

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทากเปลือย (nudibranchs) เป็นสัตว์ทะเลจำพวกหอย (Phylum Mollusca) ในกลุ่มหอยฝาเดียว (Class Gastropoda) ซึ่งหมายถึงสัตว์ที่มีส่วนเท้าติดกับส่วนท้อง สัตว์ในกลุ่มทากเปลือยมีความหลากหลายของจำนวนชนิดสูงและมีจำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์กลุ่มอื่นในชั้นย่อย (Subclass) Opisthobranchia เดียวกัน โดยพบเป็นจำนวนมากกว่า 900 ชนิดทั่วโลก ทั้งนี้ ทากเปลือยถูกจำแนกออกเป็น 4 อันดับย่อย (Suborder) ได้แก่ Doridacea, Dendronotacea, Arminacea และ Aeolidacea ในอันดับ (Order) Nudibranchia (Jensen 2000)

หากเปลือยอาศัยอยู่ในทะเล ตั้งแต่ชายฝั่งทะเลจนถึงทะเลลึก สามารถพบได้ตามซอกหิน ปะการัง ฟองน้ำ เพรียงหัวหอม สาหร่ายทะเล หญ้าทะเล เป็นต้น (Grzimek 1984) ลักษณะทั่วไปเป็นสัตว์ที่มีเปลือกเฉพาะในระยะแรกของตัวอ่อน และทำการทิ้งเปลือกภายหลังที่ฟักออกจากไข่ ส่วนของลำตัวไม่แบ่งเป็นปล้อง มีสมมาตรซ้ายขวา ทั้งนี้ ร่างกายประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนเท้า แมนติล ซองแมนติล และอวัยวะภายใน ส่วนหัวของหากเปลือยมีลักษณะที่ชัดเจน ภายในปากมีเขี้ยว (jaw) และฟันที่ใช้ขูดอาหาร (radula) ด้านบนของส่วนหัวมีอวัยวะรับความรู้สึก เรียกว่า rhinophores และมีอวัยวะทำหน้าที่คล้ายเหงือกเรียกว่า cerata ซึ่งอวัยวะทั้งสองสามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของหากเปลือยได้ ส่วนเท้าอยู่บริเวณด้านล่างของลำตัว เป็นบริเวณที่มีกล้ามเนื้อที่แข็งแรง การเคลื่อนไหวที่ใช้การหดสลับกับการคลายตัวของส่วนเท้าเป็นจังหวะ บางครั้งมีการดีดตัวออกจากพื้นเข้าสู่มวลน้ำอันเป็นลักษณะของการว่ายน้ำซึ่งนับเป็นการหนีผู้ล่าอีกวิธีหนึ่งของหากเปลือย ส่วนของแมนติลที่ส่วนใหญ่มีสีส้มสวยงาม ทำหน้าที่ห่อหุ้มลำตัวแทนเปลือกแข็ง ส่วนขอบของแมนติลในหากเปลือยบางชนิดอาจมีต่อมขนาดเล็กสำหรับเก็บสารที่ใช้ในการป้องกันตัวจากผู้ล่า (Harris 1973; Thompson 1976; Behrens 1991; Jones et al 1998; Jensen, 2000)

หากเปลือยเป็นสัตว์กินเนื้อเป็นอาหาร โดยมีการเลือกชนิดของอาหารและมีวิธีการกินที่แตกต่างกัน อาหารของหากเปลือยได้แก่ ฟองน้ำ ในดาเรีย ไบรโอซัว เพรียงหัวหอม ไซปลา รวมถึง หากเปลือยกลุ่มอื่น บางชนิดกินเหยื่อทั้งตัวแต่บางชนิดกินเฉพาะส่วนภายในของเหยื่อ จากความแตกต่างของชนิดและวิธีการกินอาหารทำให้หากเปลือยมีลักษณะของฟันหรือแผงฟันที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ หากเปลือยส่วนใหญ่ออกหากินในเวลากลางคืน (Harris 1973; Thompson 1976; Jones et al 1998; Jensen 2000)

หากเปลือยมีเพศเป็นกระเทย โดยมี 2 เพศในตัวเดียวกัน และมีกระบวนการสืบพันธุ์ในการสร้างสเปิร์มและไข่พร้อมกัน หากเปลือยวางไข่โดยสร้างส่วนที่เป็นเมือกซึ่งมีความแข็งแรงไว้ห่อหุ้มไข่ รูปร่างของไข่มีหลายลักษณะ หลายขนาด และหลากสี โดยกลุ่มของไข่อาจมีลักษณะขดเป็นเกลียวยาว และพบการวางไข่บนสิ่งยึดเกาะหรือบนแหล่งอาหารโดยตรง (Thompson 1976; Pawlik et al 1998) ระยะเวลาพัฒนาการของไข่แตกต่างกันตามชนิด ตั้งแต่ 2-3 วัน จนกระทั่งนับเป็นเดือน เริ่มจากพัฒนาเป็นตัวอ่อนที่ดำรงชีพเป็นแพลงก์ตอน (planktotrophic larvae) กลายเป็นตัวอ่อนระยะ veliger ซึ่งสามารถว่ายน้ำได้อย่างอิสระ (free swimming) และสุดท้ายจึงเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) เพื่อลงคืบคลานบนพื้นผิวกลายเป็นหากเปลือยระยะวัยอ่อนและวัยรุ่นที่มีลักษณะรูปร่างเหมือนพ่อแม่ต่อไป ทั้งนี้ ตัวอ่อนในระยะที่มีการว่ายน้ำได้อย่างอิสระสามารถแพร่กระจายเป็นระยะทางได้ไกลมากโดยอาศัยกระแสน้ำเป็นตัวนำพา (Harris 1973; Thompson 1976)

การที่ทากเปลือยปราศจากเปลือกแข็งห่อหุ้มร่างกาย จึงจำเป็นต้องพัฒนากลไกในการป้องกันตัวจากผู้ล่า โดยส่วนใหญ่เป็นการพรางตัวให้เข้ากับสถานที่หรือเลียนแบบสัตว์อื่น หรือ มีการเคลื่อนไหวของอวัยวะบางส่วนเพื่อทำความตกใจให้กับศัตรู รวมถึง การมีสีส้มที่สดใสซึ่งบ่งบอกถึงการมีพิษ การสร้างสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อศัตรู และการใช้เข็มพิษโดยตรง การสร้างสารทุติยภูมิของทากเปลือยนี้มีรายงานการพบในสัตว์ทะเลกลุ่มอื่นเช่นกัน โดยส่วนมากเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น ฟองน้ำ เพรียงหัวหอม ไบรโอซัว ไฮดรอซัย เป็นต้น (Fontana et al 2000, 2001; Faulkner 2002; Mayer and Gustafson 2003, 2006)

ทากเปลือย *Jorunna funebris* จัดอยู่ในอันดับย่อย Doridacea เป็นทากเปลือยในกลุ่มที่รู้จักกันทั่วไปในนามของ dorids ทากเปลือยกลุ่มนี้มีรูปร่างแบนและมีจุดด้านหลัง ส่วนของแมนติลคลุมถึงท่ามองเห็น rhinophores จากด้านนอกได้อย่างชัดเจน เหงือกส่วนใหญ่เรียงตัวกันเป็นวงรอบทวารหนักทางด้านท้ายของลำตัว (Harris 1973) ลักษณะการกินอาหารแบ่งออกเป็นแบบดูดกินและแบบดูดกินเนื้อเยื่อ โดยอาหารของกลุ่มที่ดูดกินได้แก่ ฟองน้ำทะเล เช่น ฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ซึ่งเป็นอาหารหลักของทากเปลือย *Jorunna funebris* การที่ฟองน้ำมีโครงสร้างภายในเป็น spicule ที่มีความแข็งเป็นส่วนค้ำจุนร่างกาย ทำให้ต้องใช้แรงในการดูดอาหารพร้อมทั้งเคลื่อนย้ายชิ้นอาหารดังกล่าวลงสู่หลอดอาหารโดยวิธี peristaltic ต่อไป อวัยวะที่ใช้ในการกินอาหารจึงมีเฉพาะฟันดูดอาหารที่ค่อนข้างกว้างและมีจำนวนซี่ฟันมากในแต่ละแถว และมีกระพุ้งลำไส้ใหญ่ (cecum) ซึ่งเป็นส่วนของกระเพาะอาหารที่ขยายออกไป โดยมีการสะสม spicule ที่ถูกดูดกินเข้าไปด้วยกันก่อนที่จะขับถ่ายเป็นมูลออกมาภายหลัง สำหรับกลุ่มที่ดูดกินเนื้อเยื่อนั้น พบว่ามีจำนวนซี่ฟันในแต่ละแถวน้อย ซึ่งจะทำให้การเจาะรูจากผนังด้านนอกของเหยื่อ และใช้ buccal pump ดูดสารอาหารกึ่งเหลวจากตัวเหยื่อออกมาเพื่อนำส่งไปยังหลอดอาหารและกระเพาะอาหารต่อไป (Harris 1973)

การศึกษาสารทุติยภูมิในทากเปลือย *Jorunna funebris* นั้น พบว่า สามารถสกัดสารกลุ่ม jorumycin และ renieramycin ซึ่งมีฤทธิ์ต่อต้านโรคมะเร็งของมนุษย์จากตัวอย่างแมนติลและเมือกของทากเปลือย (Fontana et al 2000, 2001; Lane et al 2005, 2006) ซึ่งสารกลุ่ม renieramycin ที่พบเป็นสารกลุ่มเดียวกับที่พบในฟองน้ำทะเล ซึ่งรวมถึง ฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ที่เป็นอาหารของทากเปลือย *Jorunna funebris* ด้วย (Kubo et al 1989; Oku et al 2003; Amnuoypol et al 2004; Nakao et al 2004) แสดงถึงทากเปลือยรับสารดังกล่าวจากอาหารโดยตรง

หากเปลือกทั้งหมดที่มีรายงานล่าสุดในน่านน้ำไทยมี 97 ชนิด กระจายอยู่ทั้งฝั่งอ่าวไทยและทะเลอันดามัน (Chavanich et al 2010) ซึ่งเป็นจำนวนที่เพิ่มขึ้นมากจากรายงานที่ผ่านมา (ณรงค์พลสิทธิวิวัฒน์ 2544; ธรรณ อารงนาวาสวัสดิ์ และคณะ 2551) โดยที่หากเปลือก *Jorunna funebris* เป็นหากเปลือกที่พบกระจายทั่วไป และเป็นกลุ่มเด่นในหลายพื้นที่ รวมถึง ในพื้นที่อ่าวไทยฝั่งตะวันออก อย่างไรก็ตาม เนื่องจากปัจจัยแวดล้อมในพื้นที่ดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้ประชากรหากเปลือกที่เป็นกลุ่มเด่นในบริเวณดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลง (ภัททิรา เกษมศิริ 2547) สำหรับการศึกษาศาสตร์ทุติยภูมิที่สะสมในหากเปลือก *Jorunna funebris* และ ฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ในประเทศนั้น พบสาร renieramycin M ที่มีความเสถียรสูงและแสดงการออกฤทธิ์ต่อต้านเซลล์มะเร็งเช่นกัน (Suwanborirux et al 2003; Amnuoypol et al 2004; Saito et al 2004a, 2004b)

จากวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการเติบโตและปริมาณการผลิตสารทุติยภูมิของหากเปลือก *Jorunna funebris* ที่มาจากการเพาะเลี้ยงในระบบเลี้ยงกับในธรรมชาติในการศึกษาคั้งนี้ หากผลการศึกษาบ่งบอกถึงความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยง ข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถนำไปเพาะเลี้ยงหากเปลือกในระบบเลี้ยงที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป ซึ่งเป็นการจัดการทรัพยากรโดยการใช้ประโยชน์ให้มีคุณค่าและยั่งยืนมากยิ่งขึ้น รวมถึง สามารถลดผลกระทบที่เกิดจากการทำลายทรัพยากรและสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติได้เช่นกัน

วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1) ศึกษาพัฒนาการของไขหากเปลือก *Jorunna funebris*
- 2) ศึกษาอัตราการเติบโตของหากเปลือก *Jorunna funebris* แต่ละขนาดที่นำมาเลี้ยงในระบบเลี้ยง
- 3) ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตสารทุติยภูมิของหากเปลือก *Jorunna funebris* แต่ละขนาดที่ได้จากการนำมาเลี้ยงในระบบเลี้ยงและในธรรมชาติ
- 4) ร่วมสนองพระราชดำริฯ ภายใต้โครงการ อพ.สธ.

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) องค์ความรู้ด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์และการเติบโตของหากเปลือก *Jorunna funebris*
- 2) การนำหากเปลือก *Jorunna funebris* ที่ได้จากการเลี้ยงมาใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิ
- 3) สนองพระราชดำริฯ ภายใต้โครงการ อพ.สธ.

วิธีดำเนินการศึกษา

ทำการเก็บตัวอย่างทากเปลือย *Jorunna funebris* Kelaart, 1858 พร้อมทั้งฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ซึ่งนำมาใช้เป็นอาหาร โดยการดำน้ำลึกแบบสกูบา (SCUBA diving) นำมาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพก่อนการทดลองในตู้กระจกขนาด 60 ลิตร โดยแยกเลี้ยงทากเปลือยแต่ละตัวในภาชนะพลาสติกใสแต่ละใบที่ทำการเจาะรูเพื่อให้ น้ำมีการหมุนเวียนเข้าออกได้ตลอดเวลา ควบคุมปัจจัยทางกายภาพให้มีคุณภาพน้ำใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุด โดยให้อากาศตลอดเวลาและเปลี่ยนถ่ายน้ำพร้อมทำความสะอาดถังเลี้ยงทุกวัน ให้ฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. เป็นอาหารในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการ ทั้งนี้ ทำการเปลี่ยนขึ้นอาหารที่สดใหม่ให้กับทากเปลือยทุกวัน

การศึกษาแบ่งออกเป็น 3 ส่วน โดยมีรายละเอียดดังนี้

1) พัฒนาการของไข่ทากเปลือย *Jorunna funebris*

สุ่มเลือกพ่อแม่พันธุ์ทากเปลือย *Jorunna funebris* ขนาดความยาวเฉลี่ยประมาณ 9.0 – 11.0 เซนติเมตร จำนวน 10 ตัว มาปล่อยให้จับคู่ผสมพันธุ์ในตู้กระจก จากนั้นจึงทำการแยกไข่ทั้งหมดที่ได้มาทำการเพาะฟักในบีกเกอร์ภายหลังการวางไข่ โดยใช้น้ำทะเลเทียมผ่านการฆ่าเชื้อ ที่ปรับระดับความเค็มให้เทียบเท่าความเค็มของน้ำทะเลธรรมชาติที่ใช้ในการผสมพันธุ์ เก็บตัวอย่างไข่ทุกวันมาทำการศึกษา พัฒนาการของไข่ โดยตัดส่วนของกลุ่มไข่ประมาณ 2 มิลลิเมตร ทุกวัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงพร้อมบันทึกภาพได้กล้องจุลทรรศน์ และรักษาสภาพของไข่ด้วย 10% ฟอรัมาลิน

2) การเติบโตของทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบเลี้ยง

สุ่มเลือกทากเปลือย *Jorunna funebris* ที่ผ่านการปรับสภาพก่อนการทดลองออกเป็น 3 ขนาดตามความยาวเฉลี่ย ได้แก่ ขนาดใหญ่ ความยาว > 8.0 เซนติเมตร จำนวน 15 ตัว ขนาดกลาง ความยาว 2.5 – 8.0 เซนติเมตร จำนวน 14 ตัว และขนาดเล็ก ความยาว < 2.5 เซนติเมตร จำนวน 16 ตัว มาศึกษาการเติบโตในระบบเลี้ยง โดยให้ฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. เป็นอาหาร บันทึกการเติบโตโดยความยาวและน้ำหนักทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน นอกจากนั้น ทำการทดลองหาปริมาณการกินอาหารของทากเปลือยในเวลา 12 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบพฤติกรรมการกินอาหารในเวลากลางวันและกลางคืน โดยชั่งน้ำหนักทากเปลือยก่อนและหลังการกินอาหาร และน้ำหนักของปริมาณอาหารที่ทากเปลือยกิน ทั้งนี้ ระบบเลี้ยงใช้ตู้กระจกใสขนาดปริมาตรความจุ 60 ลิตร ที่มีระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิดผ่านการกรองชีวภาพ แยกบรรจุทากเปลือยแต่ละตัวในภาชนะพลาสติกใสขนาดเล็กที่เจาะรูให้น้ำสามารถหมุนเวียนผ่านเข้าออกได้ตลอดเวลา ควบคุมปัจจัยกายภาพของน้ำให้มีคุณภาพเท่ากับหรือใกล้เคียงธรรมชาติมากที่สุด พร้อมทั้งให้อากาศอย่างต่อเนื่องและเพียงพอ

3) การผลิตสารทุติยภูมิของทากเปลือย *Jorunna funebris*

สุ่มเลือกทากเปลือย *Jorunna funebris* ขนาดความยาวเหยียดมากกว่า 8.0 เซนติเมตร จำนวน 10 ตัว มาศึกษาการผลิตสารทุติยภูมิของทากเปลือยในธรรมชาติ โดยบรรจุทากเปลือยแต่ละตัวในภาชนะพลาสติกใสที่เจาะรูลงในตะกร้าพลาสติกสีเหลี่ยมที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันศัตรูรบกวน และนำตะกร้าดังกล่าวไปแขวนในทะเลที่ระดับความลึกจากผิวน้ำประมาณ 3 เมตร บริเวณที่สะพานเทียบเรือพิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย จากนั้น จึงทำการศึกษาปริมาณของการผลิตสาร renieramycin เมื่อไม่ให้ฟองน้ำ *Xestospongia* sp. เป็นอาหารเป็นเวลา 1 สัปดาห์ (7 วัน) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารดังกล่าวในภาวะอดอาหารของทากเปลือย นอกจากนั้น จึงทำการเปรียบเทียบการผลิตสารเมื่อทำการเลี้ยงโดยให้อาหารในธรรมชาติและเลี้ยงในระบบปิดที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ทั้งนี้ ทำการแยกการวิเคราะห์สาร renieramycin จากอวัยวะที่แตกต่างกัน ได้แก่ ส่วนของเท้าและแมนเทิล โดยเก็บรักษาตัวอย่างในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20°C องศาเซลเซียส ก่อนวิเคราะห์ การสกัดสาร renieramycin ใช้วิธีการของ กฤษดา อนันตวุฒิกุล และ รัตพงษ์ ธนะทรัพย์จินดา (2551) แล้วจึงนำสารที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ความเข้มข้นด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งอาศัยหลักการโครมาโทกราฟี วัดค่าการดูดกลืนแสง และนำไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสาร renieramycin ต่อไป

ทั้งนี้ ทำการเก็บตัวอย่างทากเปลือย *Jorunna funebris* พร้อมทั้งฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ที่ใช้เป็นอาหารในบริเวณอ่าวสัตหีบ จังหวัดชลบุรี หรือ พื้นที่ใกล้เคียง นำทากเปลือยมาทำการเลี้ยงในพื้นที่ธรรมชาติบริเวณชายฝั่งทะเลเขาหมาจอก และในระบบเลี้ยง ณ พิพิธภัณฑสถานชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย จังหวัดชลบุรี โดยทำการวิเคราะห์สารทุติยภูมิ ณ ภาควิชาเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์ และภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษา

จากการศึกษาพัฒนาการของเซลล์ไขพบว่า เซลล์ไขถูกบรรจุอยู่ในถุงหุ้ม ซึ่งแต่ละถุงประกอบด้วยเซลล์ไขจำนวน 2 – 4 เซลล์ ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 1

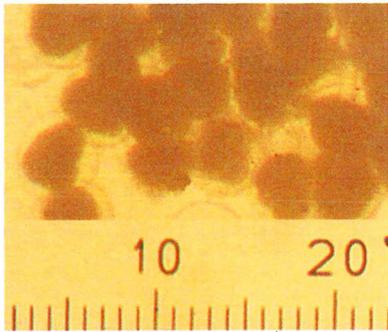
การเติบโตของทากเปลือย *Jorunna funebris* โดยน้ำหนักและความยาวแสดงในรูปที่ 2A และ 2B ตามลำดับ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยในกลุ่มทากเปลือยขนาดเล็ก (> 2.5 เซนติเมตร) แสดงอัตราการเพิ่มขึ้นต่อวันสูงสุดที่ ร้อยละ 8.8 รองลงมาที่กลุ่มขนาดกลางและขนาดใหญ่ตามลำดับ เช่นเดียวกับอัตราการเพิ่มขึ้นของความยาวโดยเฉลี่ยต่อวันมีแนวโน้มในทำนองเดียวกัน (รูปที่ 3)

สำหรับผลการกินอาหาร (ฟองน้ำ) ของทากเปลือยแสดงในรูปที่ 4 พบว่าทากเปลือยสามารถกินอาหารได้ทั้งในเวลากลางวันและกลางคืน ทั้งนี้ เฉพาะกลุ่มทากเปลือยขนาดเล็กมีการกินอาหารในเวลากลางคืนมากกว่าเวลากลางวัน อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่ากลุ่มทากเปลือยขนาดกลางและขนาดใหญ่มีการกินอาหารในช่วงเวลากลางวันที่ดีกว่า แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับช่วงเวลากลางคืน

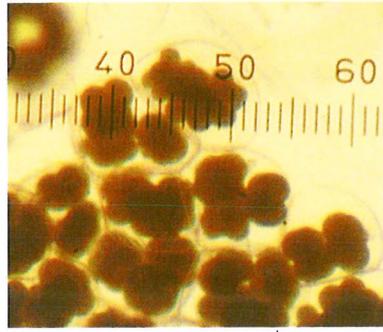
ความเข้มข้นของสารทุติยภูมิ (สาร renieramycin M) จากส่วนเท้าและแมนเทิลของทากเปลือย *Jorunna funebris* ลดลงเมื่อไม่ได้รับอาหาร (รูปที่ 5A) ขณะที่เมื่อนำมาเลี้ยงในตะกร้าแขวนโดยให้อาหารทุกวันในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ความเข้มข้นของสารดังกล่าวมีแนวโน้มลดลงเช่นกัน ทั้งนี้ ทากเปลือยที่เลี้ยงในระบบปิดมีอัตราการตายสูง และไม่สามารถตรวจพบปริมาณความเข้มข้นของสาร renieramycin M ในทากเปลือยที่รอดชีวิต

ตารางที่ 1. พัฒนาการหลังการเพาะฟักของไข่ทากเปลือย *Jorunna funebris*

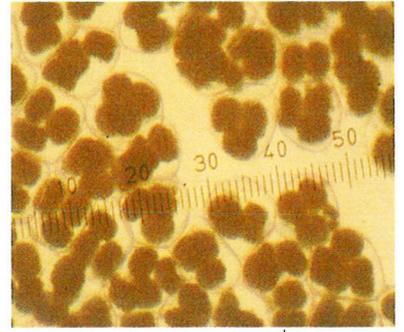
วันที่	รายละเอียดการสังเกต	รูปที่
1	ไข่มีลักษณะเป็นริบบิ้น มีสีขาวขุ่น มีจำนวนเซลล์ตั้งแต่ 2-4 เซลล์ใน 1 ถุงหุ้ม แต่ละเซลล์ภายในถุงหุ้มเริ่มทำการแบ่งตัว	1A
2	เซลล์ของไข่ภายในถุงหุ้มมีการแบ่งตัวมากขึ้น	1B
3	พบการเปลี่ยนรูปร่าง แต่ไม่ชัดเจนนัก และพบการขยับตัวของเซลล์ภายในถุงหุ้ม	1C
4	สีของริบบิ้นไข่เริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูอ่อน เซลล์ภายในมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง สังเกตพบตัวอ่อนระยะ veliger ได้ชัดเจน พร้อมเห็นตัวอ่อนภายในถุงหุ้มมีการขยับตัว	1D
5	สีของริบบิ้นไข่เปลี่ยนเป็นสีชมพูอมม่วง เซลล์ไข่มีพัฒนาการเป็น veliger ที่ชัดเจน	1E
6	veliger ออกจากถุงหุ้ม พบการฟ่อของไข่บางฟอง	1F
7	veliger ที่ออกจากถุงหุ้มเริ่มทำการเคลื่อนที่ในแนวตั้ง	1G
8	veliger บางส่วนตายบนแผ่นฟิล์มของผิวน้ำ	1H
9	veliger ที่ได้รับการเพาะฟักตายทั้งหมด	1J



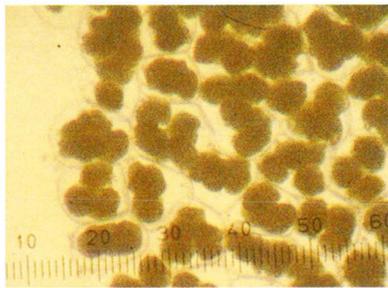
A: พัฒนาการวันที่ 1



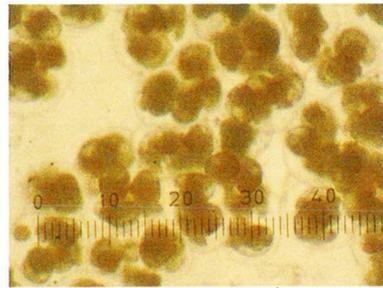
B: พัฒนาการวันที่ 2



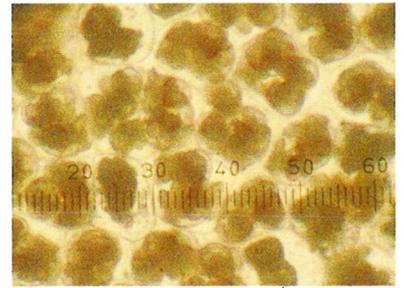
C: พัฒนาการวันที่ 3



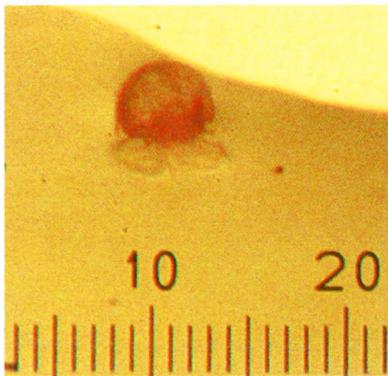
D: พัฒนาการวันที่ 4



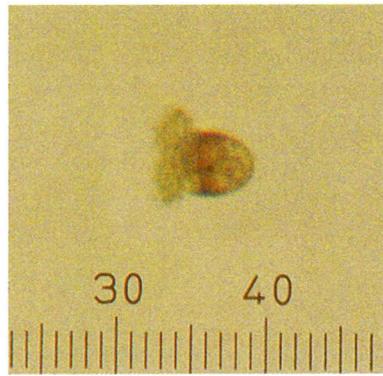
E: พัฒนาการวันที่ 5



F: พัฒนาการวันที่ 6



G: พัฒนาการวันที่ 7



H: พัฒนาการวันที่ 8

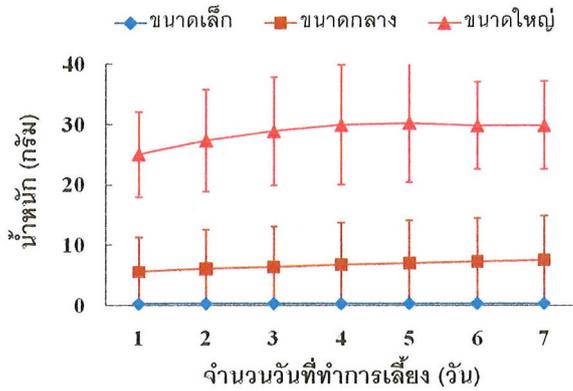


J: พัฒนาการวันที่ 9

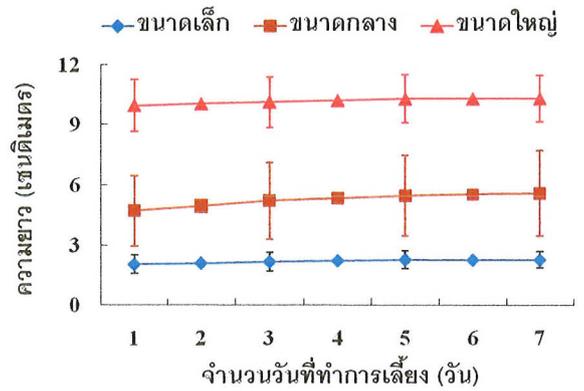
รูปที่ 1. ลักษณะของพัฒนาการหลังการเพาะฟักของไข่ทาบกเปลือย *Jorunna funebris*



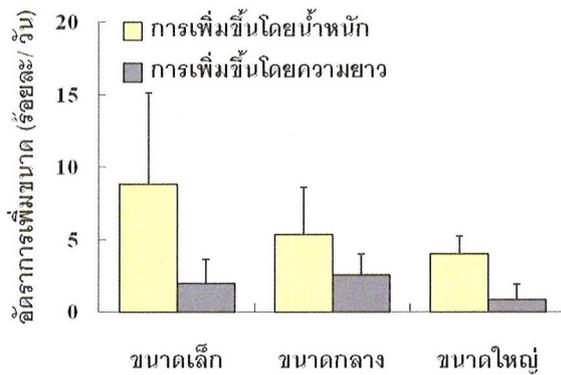
A: การเติบโตโดยน้ำหนัก



B: การเติบโตโดยความยาว

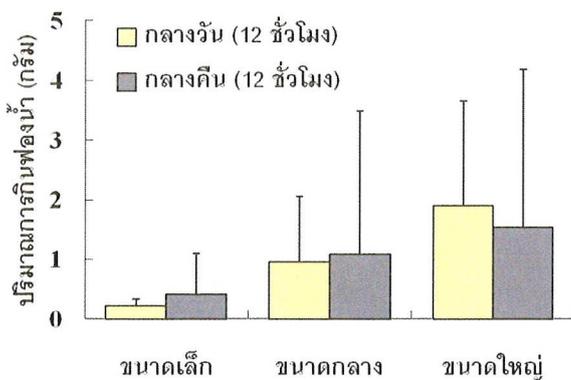


รูปที่ 2. การเติบโตเฉลี่ย (\pm S.D) โดยน้ำหนัก (A) และ ความยาว (B) ของทากเปลือย *Jorunna funibris* ที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงด้วยฟองน้ำ *Xestospongia* sp. เป็นเวลา 7 วัน

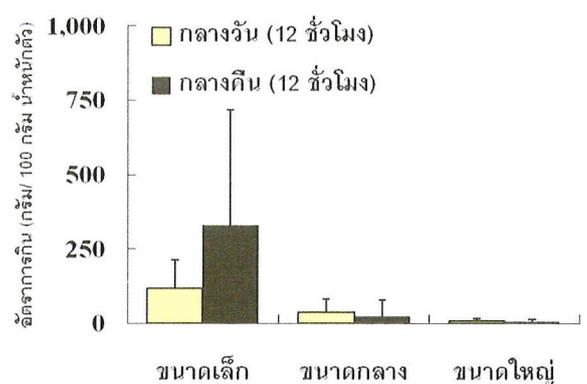


รูปที่ 3. อัตราการเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (\pm S.D) โดยน้ำหนักและความยาวของทากเปลือย *Jorunna funibris* ที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงด้วยฟองน้ำ *Xestospongia* sp. เป็นเวลา 7 วัน

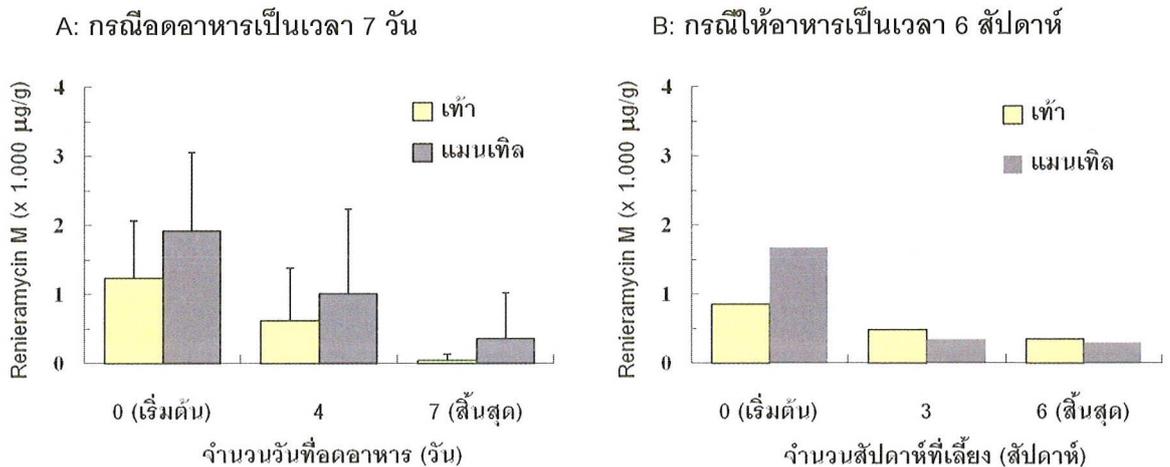
A: ปริมาณการกินฟองน้ำ



B: อัตราการกินฟองน้ำ



รูปที่ 4. ปริมาณและอัตราการกินฟองน้ำเฉลี่ย (\pm S.D) ในเวลากลางวันและกลางคืนของทากเปลือย *Jorunna funibris* ที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน



รูปที่ 5. ความเข้มข้นของสาร renieramyacin M เฉลี่ย (\pm S.D) ของทากเปลือย *Jorunna funebris* เมื่อไม่ได้รับ (A) และได้รับ (B) ฟองน้ำ *Xestospongia* sp. เป็นอาหารเป็นเวลา 7 วัน และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ

สรุปและวิจารณ์ผล

ทากเปลือย *Jorunna funebris* มีพฤติกรรมการเป็นผู้ล่าที่เลือกฟองน้ำ *Xestospongia* sp. เป็นอาหาร ซึ่งอาจเป็นผลมาจากลักษณะโครงสร้าง คุณค่าทางอาหารของเหยื่อเป็นสำคัญ รวมถึง การที่เหยื่อสร้างสารเคมีบางชนิดที่มีความจำเป็นต่อผู้ล่าในการนำไปใช้เพื่อป้องกันตัวหรืออื่นๆ เป็นต้น (Kimmerer and Potter 1987, Lambert 1991, Duffy and Paul 1992, McClintock et al 1994, Augustine and Muller-Parker 1998, Termonia et al 2001, Yang et al 2003, Fukasawa et al 2005, Nimis and Skert 2006) ทากเปลือย *Jorunna funebris* ใช้ไรโนฟอร์ (rhinophores) ในการค้นหาเหยื่อ โดยอาศัยการรับสัมผัสทางเคมีผ่านมวน้ำ (Harris 1973, Murphy and Hadfield 1997)

ทากเปลือยสามารถเคลื่อนย้ายสารทุติยภูมิที่ใช้ป้องกันตนเองไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย (Faulkner 1992, Avila and Paul 1997) โดยพบว่า ทากเปลือย *Jorunna funebris* สามารถสะสมสาร renieramyacin M ทั้งในส่วนของเต้าและแมนเทิล แต่มีปริมาณความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยที่ความเข้มข้นของสารดังกล่าวไม่เสถียร มีการเปลี่ยนแปลง ดังพบว่าเมื่อทากเปลือยอยู่ในภาวะอดอาหารหรือแม้กระทั่งได้รับอาหารเช่นกัน

ทากเปลือย *Jorunna funebris* สามารถกินอาหารได้ทั้งเวลากลางวันและกลางคืน แต่พบว่ามีค่าสูงในเวลากลางวัน การเติบโตแสดงให้เห็นว่ากลุ่มขนาดเล็กมีอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักต่อวันสูงสุด ขณะที่กลุ่มขนาดกลางมีอัตราการเติบโตโดยความยาวสูงสุด การศึกษาเกี่ยวกับอัตราการเติบโตของทาก

เปลือกมีไม่มากนัก อย่างไรก็ตาม ทากเปลือกที่มีความเฉพาะต่อเหยื่อมีอัตราการเติบโตช้ากว่าทากเปลือกที่ไม่มีการเจาะจงชนิดของเหยื่อ (Harris 1973) ในกรณีของทากเปลือก *Jorunna funebris* ขณะที่ยังอยู่ในระยะวัยอ่อน มีความต้องการเพิ่มขนาดน้ำหนักโดยการกินอาหาร หลังจากนั้นจึงเพิ่มขนาดความยาวต่อไปสำหรับทากเปลือก *Phestilla* spp. ซึ่งกินปะการังเป็นอาหารมีอัตราการเติบโตโดยความยาว ร้อยละ 5-6% ต่อวัน (Harris 1973) ทั้งนี้ ทากเปลือก *Jorunna funebris* ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่พบในธรรมชาติมีความยาวประมาณ 14 เซนติเมตร (การสังเกตส่วนตัว)

การผลิตสารทุติยภูมิของทากเปลือก *Jorunna funebris* ที่มีปริมาณความเข้มข้นลดลงเมื่อไม่ได้รับอาหารแสดงถึง ความต้องการสารดังกล่าวจากฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ที่เป็นเหยื่อ อย่างไรก็ตาม ปริมาณที่ลดลงถึงแม้จะมีการให้อาหารอาจเป็นผลมาจากวิธีการเลี้ยงทากเปลือก ถึงแม้ว่าเป็นการเลี้ยงในธรรมชาติ แต่การบรรจุทากเปลือกในขวดพลาสติกที่เจาะรู และใส่ในตะกร้าที่มีฝาปิดแขวนในทะเล อาจส่งผลต่อกลไกการป้องกันตนเองของทากเปลือกที่ลดความจำเป็นในการสร้างลง เนื่องจากถูกเลี้ยงในภาวะที่ค่อนข้างปราศจากศัตรูจากภายนอก จึงอาจมีความสัมพันธ์ต่อการเติบโต และ/หรือ การสืบพันธุ์ที่เพิ่มขึ้นได้เมื่ออาหารที่ได้รับไม่จำเป็นต้องนำไปผลิตสารดังกล่าว ในกรณีที่ทากเปลือกที่เลี้ยงในระบบปิดมีอัตราการตายสูง และไม่สามารถตรวจพบปริมาณความเข้มข้นของสาร renieramycin M ในทากเปลือกที่รอดชีวิต อาจเนื่องมาจากคุณภาพของน้ำที่ใช้ภายในระบบเลี้ยงไม่เหมาะสม เกิดการเน่าเสียของฟองน้ำ *Xestospongia* sp. ทำให้มีการขับสารเคมีภายในตัวออกเป็นจำนวนมากจนเป็นสาเหตุให้ทากเปลือก *Jorunna funebris* ตาย หรือมีร่างกายที่อ่อนแอจนไม่สามารถผลิตสารดังกล่าวได้ ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป

ทั้งนี้ สารทุติยภูมิจากฟองน้ำดังกล่าวสามารถผลิตสาร renieramycin ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็ง (Daikuhara et al 2009) โดยสาร renieramycin M ที่สกัดจากฟองน้ำ *Xestospongia* sp. จากบริเวณเกาะสีซัง จังหวัดชลบุรี สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ได้ถึง ร้อยละ 50 (Suwanborirux et al 2003)

จากการศึกษาสรุปได้ว่า ทากเปลือก *Jorunna funebris* มีความเฉพาะเจาะจงในฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. และพบความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมกรรมการกินอาหารกับการผลิตสารทุติยภูมิ อย่างไรก็ตาม ยังมีความจำเป็นต้องศึกษาความสัมพันธ์ของทากเปลือก *Jorunna funebris* และ ฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กฤษดา อนันตวุฒิกุล และ รัตพงษ์ ธนะทรัพย์จินดา. 2551. ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไซยาไนด์ที่เหมาะสมในการสกัดสารเรเนียร์รามัยซินเอ็มจากฟองน้ำ *Xestospongia* sp. โครงการปริญญาโท นิพนธ์ เภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ณรงค์พล สิทธิทวีพัฒน์. 2544. การสำรวจชนิดและการแพร่กระจายของதாகเปลือยในแนวปะการังของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 250 หน้า.
- ธรรณ์ อารณาวาสวัสดิ์ อีระพงศ์ ดั่งดี และ ณรงค์พล สิทธิทวีพัฒน์. 2551. คู่มืออันดามัน หอยทะเลไทย. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์กรมมหาชน). 328 หน้า.
- ภัททิรา เกษมศิริ. 2547. การศึกษาวิจัยปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการวางไข่และการพัฒนาการของตัวอ่อนของ ทากเปลือย : กรณีศึกษาจากทากเปลือยบริเวณเกาะหม้อในและเกาะหม้อนอก หมู่เกาะช้าง จังหวัดตราด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 181 หน้า.
- Amnuoypol, S., Suwanborirux, K., Pummangura, S., Kubo, A., Tanaka, C., and Saito, N. 2004. Chemistry of renieramycins. Part 5. Structure elucidation of renieramycin-type derivatives O, Q, R, and S from Thai marine sponge *Xestospongia* species pretreated with potassium cyanide. *J Nat Prod* 67: 1023-1028.
- Augustine L and Muller-Parker G. 1998. Selective predation by mosshead sculpin *Clinocottus globiceps* on the sea anemone *Anthopleura elegantissima* and its two algal symbionts. *Limnol Oceanogr* 43:711-715.
- Avila C and Paul VJ. 1997. Chemical ecology of the nudibranch *Glossodoris pallida*: is the location of diet-derived metabolites important for defense? *Mar Ecol Prog Ser* 150:171-180
- Behrens DW. 1991. Pacific Coast Nudibranchs : A Guide to the Opisthobranchs Alaska to Baja California. Sea Challengers, Monterey, California. 106 pp.
- Chavanich S, Harris LG and Viyakarn V. 2010. Nudibranchs of Thailand. Biodiversity Research and Training Program. Bangkok Printing Co.Ltd., Bangkok. 104 pp.
- Daikuhara N, Tada Y, Yamaki S, Charupant K, Amnuoypol S, Suwanborirux K and Saito N. 2009. Chemistry of renieramycin. Part 7. Renieramycin T and U novel renieramycin-ecteinasidin hybrid marine natural products from Thai sponges *Xestospongia* sp. *Tetrahedron Lett* 50: 4276-4278.

- Duffy JE and Paul VJ. 1992. Prey nutritional quality and the effectiveness of chemical defenses against tropical reef fishes. *Oecologia* 90: 333-339
- Faulkner DJ. 1992. Chemical defenses of marine molluscs. In Paul VJ (ed), *Ecological Roles of Marine Natural Products*. Comstock Publishing Associates, Ithaca and London, pp. 119-163.
- Faulkner DJ. 2002. Marine natural products. *Nat Prod Rep* 19; 1-48.
- Fontana A, Cavaliere P, Wahidulla S, Chandrakant GN and Cimino G. 2000. A new antitumor isoquinoline alkaloid from the marine nudibranch *Jorunna funebris*. *Tetrahedron* 56: 7305-7308.
- Fontana A, Ciavatta M, D'Souza L, Mollo E, Naik CG, Parameswaran PS, Wahidulla S and Cimino G. 2001. Selected chemo-ecological studies of marine opisthobranchs from Indian coasts. *J Indian Inst Sci* 81: 403-415.
- Fukasawa M, Tsukada H and Kosako T. 2005. Selective feeding behavior of calves is affected by basal diet. *J Anim Sci* 76:171-177
- Grzimek, B. 1984. Grzimek's Animal Life Encyclopedia. Vol. 3. Mollusks and Echinoderms. Van Nostrand Reinhold, London. 138 pp.
- Harris LG. 1973. Nudibranch Associations. *Curr Top Comp Pathobiol* 2: 213-315.
- Jensen KR. 2000. An outline of the systematic and classification of Nudibranchia (Gastropoda, Opisthobranchia). *Phuket Mar Biol Cen Sp Publ* 21: 431-446.
- Jones RE., Beveridge I, Cannon LRG, Harvey MS, Nielsen ES, Ponder WF, Just J. 1998. Mollusca : The Southern Synthesis Fauna of Australia Part B. Vol. 5. CSIRO Publishing, Melbourne.
- Kimmerer TW and Potter DA. 1987. Nutritional quality of specific leaf tissues and selective feeding by a specialist leafminer. *Oecologia* 71: 548-551.
- Kubo A, Kitahara Y and Nakahara S. 1989. Synthesis of new isoguinolinequinone metabolites of a marine sponge, *Xestospongia* sp., and the nudibranch, *Jorunna funebris*. *Chem Pharm Bull* 37: 1384-1386.
- Lambert WJ. 1991. Coexistence of Hydroid eating nudibranchs: Do feeding biology and habitat use matter? *Biol Bull* 181: 248-260.

- Lane JW, Chen Y and Williams RM. 2005. Asymmetric total syntheses of (-)-jorumycin, (-)-renieramycin G, 3-epi-jorumycin, and 3-epi-renieramycin G. *J Am Chem Soc* 127: 12684-12690
- Lane JW, Estevez A, Mortara K, Callan O, Spencer JR and Williams RM. 2006. Antitumor activity of tetrahydroisoquinoline analogues 3-epi-jorumycin and 3-epi-renieramycin G. *Bioorg Med Chem Lett* 16: 3180-3183.
- Mayer AMS and Gustafson KR. 2003. Marine pharmacology in 2000 : Antitumor and cytotoxic compounds. *Int J Cancer* 105: 291-299.
- Mayer AMS and Gustafson KR. 2006. Marine pharmacology in 2003 - 2004 : Antitumor and cytotoxic compounds. *Eur J Cancer* 42: 2241-2270.
- McClintock JB, Baker BJ, Slattery M, Heine JN, Bryan PJ, Yoshida W, Davies-Coleman MT and Faulkner DJ. 1994. Chemical defense of common Antarctic shallow-water nudibranch *Tritoniella belli* Eliot (Mollusca: Tritonidae) and its prey, *Clavularia frankliniana* Rouel (Cnidaria: Octocorallia). *J Chem Ecol* 20: 3361-3372.
- Murphy BF and Hadfield MG. 1997. Chemoreception in the nudibranch gastropod *Phestilla sibogae*. *Comp Biochem Physiol* 118A: 727-735
- Nakao Y, Shiroya T, Murayama S, Matsunaga S, Goto Y, Matsumoto Y and Fusetani N. 2004. Identification of renieramycin A as an antileishmanial substance in a marine sponge *Neopetrosia* sp. *Mar Drugs* 2: 55-62.
- Nimis PL' and Skert N. 2006. Lichen chemistry and selective grazing by the coleopteran *Lasioderma serricorne* Evir. *Exp Bot* 55: 175-182.
- Oku N, Matsunaga S, van Soest RWM and Fusetani N. 2003. Renieramycin J, a highly cytotoxic tetrahydroisoquinoline alkaloid, from a Marine Sponge *Neopetrosia* sp. *J Nat Prod* 66: 1136-1139.
- Pawlik JR, Kernan MR, Molinski TF, Harper MK and Faulkner J. 1998. Defensive chemicals of spanish dancer nudibranch *Hexabranhus sanguineus* and its egg ribbons : Macrolides derived from a sponge diet. *J Exp Mar Biol Ecol* 119: 99-109.
- Saito N, Tanaka C, Koizumi Y, Suwanborirux K, Amnuoypol S, Pummangura S and Kubo A. 2004a. Chemistry of renieramycin M. Part 6. Transformation of renieramycin M into jorumycin and renieramycin J including oxidative degradation products, mimosamycin, renieone, and renierol acetate. *Tetrahedron* 60: 3873-3881.

- Saito N, Tanaka C, Satomi T and Oyama C. 2004b. Chemistry of fenieramycins. Part 4. Synthesis of a simple natural marine product, 6-hydroxy-7-methoxyisoquinolinemethanol. *Chem Pharm Bull* 52: 282-286.
- Suwanborirux K, Amnuoypol S, Plubrukarn A, Pummangura S, Kubo A, Tanaka C and Saito N. 2003. Chemistry of renieramycin M. Part 3. Isolation and structure of stabilized renieramycin type derivatives processing antitumor activity from Thai sponge *Xestospongia* species, pretreated with potassium cyanide. *J Nat Prod* 66: 1441-1446.
- Termonia A, Hsiao TH, Pasteels MJ and Milinkovitch MS. 2001. Feeding specialization and host-derived chemical defense in chrysomeline leaf beetles did not lead to an evolutionary dead end. *PNAS* 98: 3909-3914.
- Thompson TE. 1976. Biology of Opisthobranch Molluscs, Vol. 1. The Ray Society, London, U.K.. 207 pp.
- Yang KY, Lee SY and Williams GA. 2003. Selective feeding by the mudskipper (*Boleophthalmus pectinirostris*) on the micro algal assemblage of a tropical mudflat. *Mar Biol* 143: 245-256.