

ผลของแสงและความเค็มต่อการเติบโตและการผลิตสาร Ecteinascidins
ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891

นางสาวจิตติมา อุ่มอารีย์

สถาบันวิทยบริการ

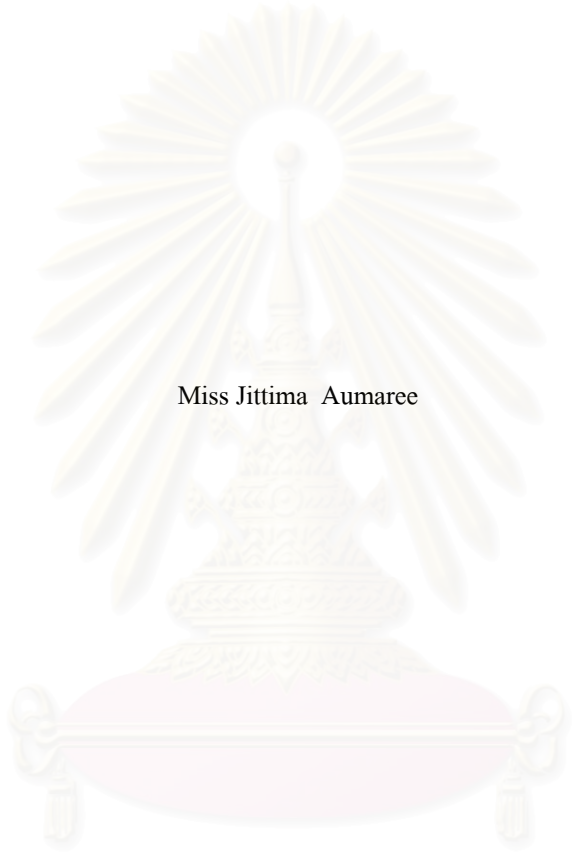
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF LIGHT AND SALINITY ON GROWTH AND ECTEINASCIDINS PRODUCTION
OF THE TUNICATE *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891



Miss Jittima Aumaree

สถาบันวิทยบริการ

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Degree of Master of Science Program in Marine Science

Department of Marine Science, Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของแสงและความเค็มต่อการเติบโตและการผลิตสาร
Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*
Herdman, 1891

โดย

นางสาวจิตติมา อุ่มอารีย์

สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์ทางทะเล

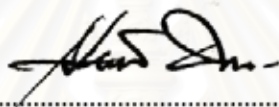
อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชนา ชวนิชย์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

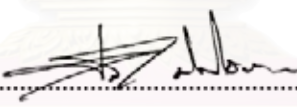
อาจารย์ ดร.วรรณพ วิทยาญจน์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท

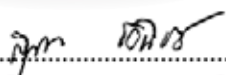


.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมณะเสวด)

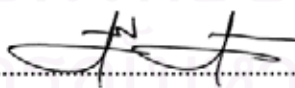
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



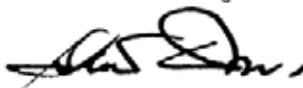
.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิตธิธรรมยง)



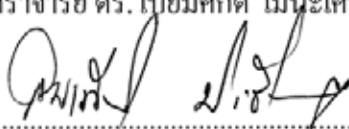
.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์)



.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ ดร. วรรณพ วิทยาญจน์)



.....กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมณะเสวด)



.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะชิตวิตรกุล)

จิตติมา อุ่มอารีย์: ผลของแสงและความเค็มต่อการเติบโตและการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 (EFFECTS OF LIGHT AND SALINITY ON GROWTH AND ECTEINASCIDINS PRODUCTION OF THE TUNICATE *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891).

อ. ที่ปรึกษา: ผศ. ดร. สุชนา ชวนิชย์, อ. ที่ปรึกษาร่วม: อ. ดร. วรณพ วิทยาอุจน์ 68 หน้า.

ศึกษาผลของแสงและความเค็มต่อการเติบโตและการผลิตสาร ecteinascidins (ET) ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* โดยแบ่งการศึกษาปัจจัยของแสง ออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ที่ 0, 25, 50, 75 และ 100 เเปอร์เซ็นต์ ของระดับความเข้มแสงปกติในธรรมชาติตามลำดับ และแบ่งการศึกษาปัจจัยความเค็มออกเป็น 5 ชุดการทดลองเช่นกัน ที่ระดับความเค็ม 26, 29, 32, 35 และ 38 พีเอสยู ตามลำดับ ทุกชุดการทดลองให้แพลงก์ตอนพืช *Chaetoceros* sp. เป็นอาหาร ทำการตรวจวัดความยาว นับจำนวนซออยด์ และวัดพื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอมเป็นระยะ ในการเลี้ยงในระบบเลี้ยงจนครบสองวงชีวิต แล้วนำเพรียงหัวหอมมาสกัดแยกและวิเคราะห์ปริมาณสาร ET ที่เพรียงหัวหอมผลิต ผลการศึกษาพบว่า การเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ทั้งในส่วนของความยาวสูงสุดของซออยด์ต่อโคโลนี จำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนี และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดของทั้งสองวงชีวิต ในทุกชุดการทดลองของแสงและความเค็มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามความยาวของซออยด์สูงสุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสอง (10.9 ± 0.8 และ 11.1 ± 4.2 มิลลิเมตร) พบในกลุ่มที่ได้รับแสง 75 และ 25 เเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีในวงชีวิตที่หนึ่งและสอง (122 ± 27 และ 56 ± 23 ซออยด์) พบในกลุ่มที่ได้รับแสง 75 และ 100 เเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้พื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสอง (19.7 ± 6.7 และ 13.4 ± 8.9 เเปอร์เซ็นต์) พบในกลุ่มที่ได้รับแสง 25 เเปอร์เซ็นต์ ทั้งสองวงชีวิต ปริมาณสาร ET 770 ที่เพรียงหัวหอมผลิตมีปริมาณมาก ($0.193 - 0.167$ กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเพรียงหัวหอม) ในกลุ่มที่ได้รับแสง 25, 75 และ 100 เเปอร์เซ็นต์ สำหรับปัจจัยด้านความเค็มนั้น พบความยาวสูงสุดของซออยด์ในวงชีวิตที่หนึ่งและสอง (11.6 ± 0.6 และ 10.6 ± 0.9 มิลลิเมตร) ในกลุ่มที่ได้รับความเค็ม 38 และ 35 พีเอสยู ตามลำดับ ส่วนจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีในวงชีวิตที่หนึ่งและสอง (88 ± 29 และ 37 ± 19 ซออยด์) พบในกลุ่มที่ได้รับความเค็ม 38 และ 32 พีเอสยู ตามลำดับ นอกจากนี้พื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสอง (19.0 ± 6.2 และ 9.7 ± 2.8 เเปอร์เซ็นต์) พบในกลุ่มที่ได้รับความเค็ม 38 และ 35 พีเอสยู ตามลำดับ ปริมาณสาร ET 770 ที่เพรียงหัวหอมผลิตมีปริมาณมาก ($0.155 - 0.135$ กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเพรียงหัวหอม) ในกลุ่มที่ได้รับความเค็ม 26, 29 และ 32 พีเอสยู สรุปได้ว่า เพรียงหัวหอมมีแนวโน้มเติบโตได้ดีที่ระดับแสง 25 และ 75 เเปอร์เซ็นต์ และผลิตสาร ET 770 ได้สูงที่ระดับแสง 25, 75 และ 100 เเปอร์เซ็นต์ และเพรียงหัวหอมมีแนวโน้มที่จะเติบโตได้ดีที่ระดับความเค็มสูง 35 และ 38 พีเอสยู และสามารถผลิตสาร ET 770 ได้สูงที่ระดับความเค็มต่ำ (26, 29 และ 32 พีเอสยู)

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล.....ลายมือชื่อนิสิต.....จิตติมา อุ่มอารีย์
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....ผศ. ดร. สุชนา ชวนิชย์
ปีการศึกษา 2549.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....อ. ดร. วรณพ วิทยาอุจน์

4672228323: MAJOR MARINE SCIENCE

KEY WORD: TUNICATE / *Ecteinascidia thurstoni*/ AQUACULTURE/ LIGHT/ SALINITY

JITTIMA AUMAREE: EFFECTS OF LIGHT AND SALINITY ON GROWTH AND ECTEINASCIDINS PRODUCTION OF THE TUNICATE *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891.
 THESIS ADVISOR: ASST. PROF. SUCHANA CHAVANICH, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR: VORANOP VIYAKARN, Ph.D. 68 pp.

The effects of light and salinity on growth and ecteinascidins (ET) productions of the tunicate *Ecteinascidia thurstoni* were investigated. Five treatments of light experiment (0, 25, 50, 75 and 100% of the light in the natural habitat) and five treatments of salinity (26, 29, 32, 35 and 38 psu) were used. During the experiment, tunicates were fed with *Chaetoceros* sp., and then the zooids were measured in length, the number of zooids were counted, and the percent covers of colony were evaluated. After two life cycle rearing, the concentrations of ecteinascidins in the tunicates were also analyzed. The results showed that there were no significant differences in the maximum length of zooids, number of zooids, and percent covers of zooids between treatments in both light and salinity assays. However, the maximum lengths of zooids in the first and second life cycles (10.9 ± 0.8 and 11.1 ± 4.2 mm.) were found at 75% and 25% of natural light intensity respectively. The highest numbers of zooids in the first and second life cycles (122 ± 27 and 56 ± 23 zooids) were detected at 75% and 100% of natural light intensity respectively. In addition, the highest percent covers of zooids in each colony in both first and second life cycles ($19.7 \pm 6.7\%$ and $13.4 \pm 8.9\%$) were found at 25% of natural light. In the light experiment, the highest concentrations of ET 770 (0.193 – 0.167 g per 100 g of tunicate dry weight) were detected at 25% of natural light. For the salinity experiments, the maximum lengths of zooids in the first and second life cycles (11.6 ± 0.6 and 10.6 ± 0.9 mm.) were found at 38 and 35 psu respectively. The highest numbers of zooids in the first and second life cycles (88 ± 29 and 37 ± 19 zooids) were detected at 38 and 32 psu respectively. In addition, the highest percent covers of zooids in each colony in the first and second life cycles ($19.0 \pm 6.2\%$ and $9.7 \pm 2.8\%$) were found at 38 and 35 psu respectively. The highest concentrations of ET 770 (0.155 – 0.135 g per 100 g of tunicate dry weight) were detected at 26, 29, and 32 psu. Therefore, tunicates in the light intensity at 25 and 75% of natural light tended to grow better and tunicates in the light intensity at 25, 75 and 100% of natural light produced higher concentrations of ET 770 while tunicates at the salinity of 35 and 38 psu tended to grow better and tunicates at the salinities of 26, 29, and 32 tended to produce higher concentrations of ET 770.

Department.....	Marine Science.....	Student's signature.....	จิตติมา อุมารัง
Field of study.....	Marine Science.....	Advisor's signature.....	สุชนา ชวนิช
Academic year.....	2006.....	Co-advisor's signature.....	วอราณพ วิยการณ

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. วรรณพ วิทยาญจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม สำหรับความช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาในครั้งนี้ ทำให้การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิตธิธรรมยง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต และรองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรวิตรกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาตรวจแก้ข้อผิดพลาดในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. คณิต สุวรรณบริรักษ์ ภาควิชาเภสัชเวท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับความช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆ และขอขอบคุณ คุณชุตินา เพชรประยูรและคุณสุภาพร บุญศิริลักษณ์ ที่คอยแนะนำช่วยเหลือในห้องปฏิบัติการเภสัชเวท

ขอขอบคุณ อาจารย์วิชา กันบัว ที่คอยแนะนำช่วยเหลือการใช้เครื่องมือ HPLC อาจารย์อุดมศักดิ์ คารุมาศ คุณสุภาวดี จันทร์จุงจิตต์ คุณศิริมาศ สุขประเสริฐ คุณปวีณา ตปนียวรงค์ ตลอดจนพี่ เพื่อน และน้องๆ ร่วมอาจารย์ที่ปรึกษา ที่ช่วยเหลือ แนะนำ และให้กำลังใจ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจาก โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT T_348008 และ ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2548

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ขอบคุณน้องสาว สำหรับกำลังใจและกำลังใจทรัพย์ที่มีให้ตลอดมา ทำให้การทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สถาบันวิจัยประชากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูป.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 การใช้ประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทะเล.....	4
2.2 ข้อจำกัดในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทะเล.....	6
2.3 ถิ่นที่อยู่ และผลของปัจจัยทางกายภาพ.....	6
2.3.1 แสง.....	7
2.3.2 อุณหภูมิ และความเค็ม.....	8
2.4 การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมเพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	9
3. วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 สัตว์ทดลอง สถานที่วิจัย และระบบการเลี้ยง.....	14
3.2 ขั้นตอนการวิจัย รวบรวม และวิเคราะห์ข้อมูล.....	15
3.2.1 ผลของแสงต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	15
3.2.2 ผลของความเค็มต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	16
3.2.3 ผลของแสงและความเค็มต่อการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	16
3.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	18
4. ผลการศึกษา	
4.1 ผลของแสงต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	19
4.1.1 ผลของแสงต่อการเติบโตของความยาวชูออยด์.....	19
4.1.2 ผลของแสงต่อจำนวนชูออยด์.....	21
4.1.3 ผลของแสงต่อพื้นที่ปกคลุมของโคโลนี.....	24

4.1.4 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดการเติบโตของเพรียงหัวหอม.....	26
4.1.5 ผลการเปรียบเทียบการเติบโตของเพรียงหัวหอมในสองวงชีวิต.....	26
4.2 ผลของความเค็มต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	27
4.2.1 ผลของความเค็มต่อการเติบโตของความยาวชูออยด์.....	27
4.2.2 ผลของความเค็มต่อจำนวนชูออยด์.....	29
4.2.3 ผลของความเค็มต่อพื้นที่ปกคลุมของโคโลนี.....	32
4.2.4 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดการเติบโตของเพรียงหัวหอม.....	34
4.2.5 ผลการเปรียบเทียบการเติบโตของเพรียงหัวหอมในสองวงชีวิต.....	34
4.3 ผลของแสงและความเค็มต่อการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	35
4.3.1 ผลของแสงต่อการผลิตสาร ET 770.....	35
4.3.2 ผลของความเค็มต่อการผลิตสาร ET 770.....	36
5. วิจารณ์ สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ	
วิจารณ์ผลการศึกษา.....	37
5.1 ผลของแสงต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	37
5.2 ผลของความเค็มต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	38
5.3 ผลของแสงและความเค็มต่อการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	39
สรุปผลการศึกษา.....	43
ข้อเสนอแนะ.....	43
รายการอ้างอิง.....	45
ภาคผนวก.....	50
ภาคผนวก ก.....	51
ภาคผนวก ข.....	54
ภาคผนวก ค.....	66
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	68

ตารางที่	หน้า
3-1 สภาวะของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร ecteinascidins จากเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	18
4-1 อายุของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> เปรียบเทียบกับความยาวสูงสุดของซุออยด์ ต่อโคโลนีในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน.....	19
4.2 อายุของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> เปรียบเทียบกับจำนวนซุออยด์สูงสุด ต่อโคโลนีในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน.....	22
4.3 อายุของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> เปรียบเทียบกับพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุด ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน.....	24
4.4 ผลการเปรียบเทียบการเติบโตของเพรียงหัวหอมที่เลี้ยง ในระดับแสงที่แตกต่างกันในสองรอบวงชีวิต.....	26
4.5 อายุของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> เปรียบเทียบกับความยาวสูงสุดของซุออยด์ ต่อโคโลนีในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	27
4.6 อายุของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> เปรียบเทียบกับจำนวนซุออยด์สูงสุด ต่อโคโลนีในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	30
4.7 อายุของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> เปรียบเทียบกับพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุด ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	32
4.8 ผลการเปรียบเทียบการเติบโตของเพรียงหัวหอมที่เลี้ยง ในระดับความเค็มที่แตกต่างกันในสองรอบวงชีวิต.....	34

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2-1 ลักษณะ โครงสร้างของเพรียงหัวหอม	3
2-2 กระบวนการ metamorphosis ของเพรียงหัวหอม	4
2-3 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Ecteinascidins	5
2-4 ระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์และถักรวบรวมตัวอ่อนเพรียงหัวหอม <i>E. turbinata</i> บนบก	11
2-5 ระบบเลี้ยงเพรียงหัวหอม <i>E. turbinata</i> ในทะเล	11
2-6 แบบจำลองในการเลี้ยงเพรียงหัวหอม <i>E. turbinata</i> บนตารางไถล่อน	12
3-1 เพรียงหัวหอม <i>Ecteinascidia thurstoni</i> Herdman, 1891	14
3-2 โรงเพาะเลี้ยง สถานีวิจัยสัตว์ทะเล อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี	14
3-3 ลักษณะการเลี้ยงเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในถังเลี้ยง	15
3-4 การสกัดแยกสาร Ecteinascidins จากเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i>	17
4-1 ความยาวสูงสุดของซออยด์ต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	20
4-2 การเติบโตของซออยด์ของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	20
4-3 อัตราการเปลี่ยนแปลงความยาวสูงสุดของซออยด์ต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	21
4-4 จำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	22
4-5 การเพิ่มขึ้นต่อวันของจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	23
4-6 อัตราการเปลี่ยนแปลงจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	23
4-7 พื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	25
4-8 การเพิ่มขึ้นต่อวันของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	25
4-9 อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	26

สารบัญรูป (ต่อ)

ฉ

รูปที่	หน้า
4-10 ความยาวสูงสุดของซุอยด์ต่อ โคลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	28
4-11 การเติบโตต่อวันของซุอยด์ของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	28
4-12 อัตราการเปลี่ยนแปลงความยาวสูงสุดของซุอยด์ต่อ โคลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	29
4-13 จำนวนซุอยด์สูงสุดต่อ โคลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	30
4-14 การเพิ่มขึ้นต่อวันของจำนวนซุอยด์สูงสุดต่อ โคลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	31
4-15 อัตราการเปลี่ยนแปลงจำนวนซุอยด์สูงสุดต่อ โคลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	31
4-16 พื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อ โคลนีของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	33
4-17 การเพิ่มขึ้นต่อวันของพื้นที่ปกคลุม โคลนีสูงสุดของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	33
4-18 อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อ โคลนีของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน.....	34
4-19 ปริมาณสาร ET 770 ที่สกัดได้จากเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในธรรมชาติ และจากการเลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกันในสองรอบวงชีวิต.....	35
4-20 ปริมาณสาร ET 770 ที่สกัดได้จากเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในธรรมชาติ และจากการเลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกันในสองรอบวงชีวิต.....	36
5-1 เพรียงหัวหอมตัวเต็มบนพื้นผิวเดียวกับ <i>E. thurstoni</i>	41
5-2 เซลล์สืบพันธุ์ของเพรียงหัวหอมที่สร้างขึ้นในระหว่างการทดลองเลี้ยง.....	42
ก-1 ค่ามาตรฐานสาร ET 770.....	52
ก-2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน ET 770.....	52
ก-3 โครมาโทแกรมของสาร ET 770 มีค่า retention time เท่ากับ 7.6 นาที.....	53

สารบัญรูป (ต่อ)

ณ

รูปที่		หน้า
ข-1	ความยาวเฉลี่ยของชูออยด์เพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	54
ข-2	ความยาวชูออยด์ของโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	55
ข-3	ความยาวเฉลี่ยของชูออยด์เพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน	56
ข-4	ความยาวชูออยด์ของโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน	57
ข-5	จำนวนชูออยด์เฉลี่ยของโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	58
ข-6	จำนวนชูออยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	59
ข-7	จำนวนชูออยด์เฉลี่ยของโคโลนีเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน	60
ข-8	จำนวนชูออยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน	61
ข-9	พื้นที่ปกคลุมโคโลนีเฉลี่ยของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	62
ข-10	พื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน	63
ข-11	พื้นที่ปกคลุมโคโลนีเฉลี่ยของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน	64
ข-12	พื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน	65

รูปที่	หน้า
ค-1	ผลผลิตรวมของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่ต่างกัน..... 66
ค-2	ผลผลิตรวมของสาร ET 770 จากเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่ต่างกัน 66
ค-3	ผลผลิตรวมของเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ที่เลี้ยงภายใต้ ระดับความเค็มที่ต่างกัน 67
ค-4	ผลผลิตรวมของสาร ET 770 จากเพรียงหัวหอม <i>E. thurstoni</i> ที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่ต่างกัน 67



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ระบบนิเวศทางทะเลเป็นระบบนิเวศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง มีความซับซ้อนมาก และเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญของมนุษย์ ปัจจุบันนักวิจัยให้ความสนใจกับสิ่งมีชีวิตหลายชนิดที่มีถิ่นอาศัยอยู่ในระบบนิเวศทางทะเล โดยเฉพาะกลุ่มสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น เพรียงหัวหอม (tunicates) ฟองน้ำ (sponges) ไบรโอซัว (bryozoans) หรือมอลลัส (molluscs) เนื่องจากสัตว์เหล่านี้มีการผลิตสารเคมีเพื่อความอยู่รอดของตน โดยเป็นสารป้องกันตัวจากการถูกล่า ซึ่งสารดังกล่าวจัดเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive metabolites) ที่มีสรรพคุณทางเภสัช

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเพรียงหัวหอมทะเลของประเทศไทย เริ่มขึ้นเมื่อ Suwanborirux *et al.* (2002) ทำการสกัดแยกสารกลุ่ม Ecteinascidins (ET) ได้แก่ ET 770 และ ET 786 ที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งผนังลำไส้ มะเร็งบริเวณโพรงจมูกและคอหอย เป็นต้น โดยสกัดจากเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 ที่พบในประเทศไทย สารสกัด ET 770 และ ET 786 มีคุณสมบัติคล้ายกับสาร ET 743 ที่สกัดได้จากเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia turbinata* (Wright *et al.*, 1990; Sakai *et al.*, 1996; Hendricks *et al.*, 1999) ซึ่งสาร ET 743 ในขณะนี้อยู่ระหว่างการทดลองทางคลินิก เพื่อใช้เป็นยาต้านมะเร็งให้กับผู้ป่วย จึงมีความเป็นไปได้ในการพัฒนาสาร ET 770 และ ET 786 ให้เป็นยาด้านมะเร็งเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าสามารถสังเคราะห์สาร ET ได้ด้วยวิธีการทางเคมี แต่เนื่องจากความซับซ้อนของโครงสร้างโมเลกุลจึงทำให้สารที่สังเคราะห์ได้มีปริมาณน้อย และมีต้นทุนการผลิตสูง ทำให้ความต้องการสาร ET ในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการยังคงอาศัยสิ่งมีชีวิตจากธรรมชาติในปริมาณสูงเช่นกันในอนาคต เนื่องจากปริมาณที่สามารถสกัดได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบที่ต้องนำมาใช้ การผลิตสารในเชิงอุตสาหกรรมให้ได้ปริมาณที่เพียงพอจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัย โดยเฉพาะในด้านการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ที่จะลดแรงกดดันที่มีต่อปริมาณเพรียงหัวหอมและระบบนิเวศในธรรมชาติ เมื่อมีการนำประชากรเพรียงหัวหอมมาใช้ประโยชน์มากเกินไปกำลังผลิตของธรรมชาติ และเป็นการรองรับความต้องการเพรียงหัวหอมที่มีแนวโน้มถูกนำไปใช้ประโยชน์มากยิ่งขึ้น ให้เพียงพอต่อไปในอนาคต

การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสาร ET นั้น จำเป็นต้องศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา วงชีวิต อาหาร สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม รวมทั้งปัจจัยทางกายภาพ เช่น ปริมาณแสง ความเค็ม และอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการเติบโตและปริมาณสาร ET ที่ผลิตได้ การศึกษาครั้ง

นี้ จึงเน้นในส่วนของปัจจัยกายภาพบางประการที่ส่งผลต่อการเติบโตและการผลิตสาร ET ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* เพื่อนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมเชิงพาณิชย์เพื่อการผลิตสาร ET ให้เพียงพอับความต้องการในอนาคตโดยไม่ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศธรรมชาติ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของแสงและความเค็มที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการเลี้ยงเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 ที่ได้จากธรรมชาติ ในระบบเลี้ยงที่ควบคุมปริมาณความเข้มของแสงและระดับความเค็มที่แตกต่างกัน ติดตามการเติบโตโดยทำการบันทึกขนาด น้ำจำนวนตัว (zooid) และพื้นที่ปกคลุมพื้นผิวเพรียงหัวหอม รวมถึงปริมาณของสาร Ecteinascidins ที่ผลิตได้ระหว่างชุดทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

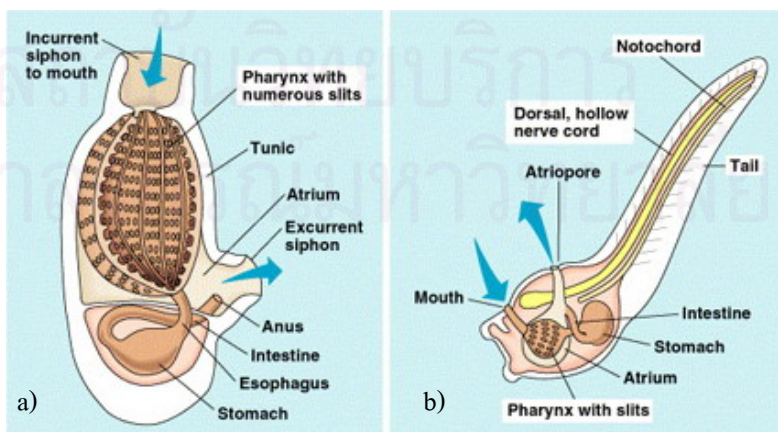
นำข้อมูลมาประยุกต์เพื่อการเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 เชิงพาณิชย์เพื่อการผลิตสาร Ecteinascidins

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เพรียงหัวหอม (tunicate) เป็นสัตว์ทะเลใน Phylum Chordata Subphylum Urochordata ประกอบด้วย 3 Class ได้แก่ Ascidiacea, Thaliacea และ Larvacea ทั้งนี้ เพรียงหัวหอมใน Class Thaliacea และ Larvacea มีการดำรงชีวิตเป็นแพลงก์ตอนตลอดชีวิต ในขณะที่ Class Ascidiacea หรือ ascidians ที่มีชื่อเรียกอีกอย่างว่า sea squirt และมีจำนวนของชนิดของเพรียงหัวหอมมากที่สุด เป็นสัตว์ที่มีการดำรงชีวิตโดยยึดเกาะกับสิ่งอื่น (สัตว์เกาะติด) ซึ่งอาจดำรงชีวิตเป็นตัวเดี่ยว (solitary tunicates) และมีขนาดใหญ่ หรืออาศัยอยู่ร่วมกันเป็นโคโลนี (colonial tunicates) ซึ่งมีจำนวนตัว (ซออยด์) ตั้งแต่สองสามซออยด์จนถึงร้อยซออยด์ในโคโลนีเดียวกัน ซออยด์ทั้งหมดมีการเชื่อมต่อกันด้วย stolon โดยทั่วไปแล้วสามารถพบเพรียงหัวหอมได้ทั่วไปในบริเวณน้ำตื้น อาจยึดเกาะอยู่กับหิน เปลือกหอย เสา หรือใต้ท้องเรือ บางชนิดที่เป็นตัวเดี่ยวสามารถพบได้ในบริเวณพื้นโคลน และทรายซึ่งใช้เส้นใยหรือก้าน (stalk) ยึดติดกับพื้นผิวนั้นๆ เพรียงหัวหอมโดยทั่วไปพบทั้งลักษณะที่เป็นทรงกลมหรือทรงกระบอก ปลายด้านหนึ่งของตัวยึดติดอยู่กับพื้น ในขณะที่ปลายอีกด้านหนึ่งเป็นท่อเปิด ซึ่งมี 2 ทาง ได้แก่ incurrent siphon และ excurrent siphon ซึ่งใช้ในการนำอาหารเข้าและขับถ่ายของเสียออก (Ruppert and Barnes, 1991) เพรียงหัวหอมเป็นสัตว์ที่กรองกิน (filter feeder) อาหารและน้ำถูกนำผ่านเข้ามาทาง incurrent siphon ซึ่งทุกอนุภาคที่ผ่านเข้ามาถูกกรองด้วย branchial basket หลังจากนั้น ส่วนที่ไม่มีการใช้ประโยชน์รวมทั้งของเสียจะถูกนำออกทาง atrial siphon ต่อไป (Duckworth *et al.*, 2004) ทั้งนี้ เพรียงหัวหอมมีลิ้นและขนาดที่หลากหลาย ส่วนของลำตัวถูกปกคลุมด้วย tunic ซึ่งเป็นโครงสร้างภายนอก (รูปที่ 2-1a) และเป็นที่มาของชื่อ tunicate (Ruppert and Barnes, 1991)

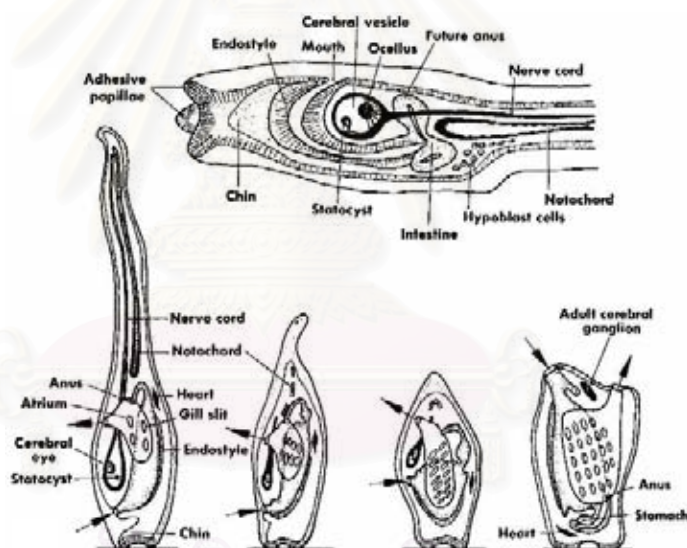


ที่มา: Campbell *et al.* (1999)

รูปที่ 2-1. ลักษณะโครงสร้างของเพรียงหัวหอม a) โครงสร้างตัวเต็มวัย และ b) โครงสร้างตัวอ่อน

เพรียงหัวหอมเป็นกระเทย และมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยและไม่อาศัยเพศ (Cloney, 1990) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเป็นการแตกหน่อ (budding) พบเฉพาะเพรียงหัวหอมที่อาศัยร่วมกันเป็นโคโลนี โดยแต่ละหน่อในโคโลนีเรียกว่า blastozoid ซึ่งเกิดจาก oozoid หรือ zooid ที่พัฒนาจากไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ สำหรับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีการปฏิสนธิภายในตัวเอง (self fertilization) และปฏิสนธิแบบข้ามตัว (cross fertilization) ทั้งนี้ เพรียงหัวหอมส่วนใหญ่มีการปฏิสนธิแบบข้ามตัว

ตัวอ่อนของเพรียงหัวหอม เรียกว่า tadpole larva สามารถว่ายน้ำเป็นอิสระ (รูปที่ 2-1b) เมื่อถึงระยะเวลาลงเกาะ ตัวอ่อนจะลงเกาะบนพื้นผิวนั้นโดยใช้ส่วนหัว แล้วจึงเข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) ดังแสดงในรูปที่ 2-2 เข้าสู่การเป็นเพรียงหัวหอมระยะวัยรุ่น ซึ่งส่วนที่เป็นหางจะหดเข้าสู่ลำตัว ส่วนปากหรือ buccal siphon กลับขึ้นมาเป็นด้านบน และเริ่มกรองกินอาหาร และทำการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ต่อไปเมื่อถึงระยะโตเต็มวัย (Ruppert and Barnes, 1991)



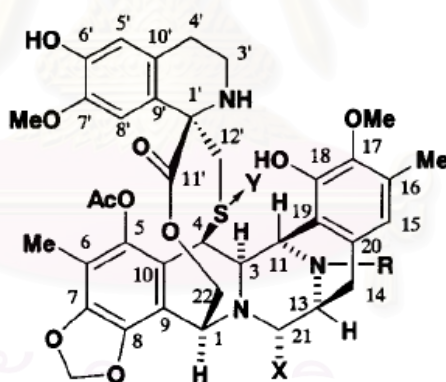
ที่มา: Hickman (1973)

รูปที่ 2-2. กระบวนการ metamorphosis ของเพรียงหัวหอม

2.1 การใช้ประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทะเล

การใช้ประโยชน์จากเพรียงหัวหอมและสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลัง เริ่มเป็นที่สนใจทางการศึกษา จากการที่นักวิจัยนำสัตว์เหล่านี้มาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในการพัฒนาทางเภสัชกรรมได้ มีการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตบนบกมาเป็นเวลานาน และพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตในทะเล (Rinehart *et al.*, 1990) ซึ่งรวมถึงผลิตภัณฑ์จาก

พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ มากกว่า 14,000 ชนิด จนถึงปัจจุบัน (Proksch *et al.*, 2003) โดยที่พบสารเหล่านี้ับร้อยชนิดต่อปี (Donia and Hamann, 2003) รวมถึงมีการจดสิทธิบัตรสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทะเลเป็นจำนวนมาก (Kerr and Kerr, 1999) และประมาณ 10–15 ประเภทอยู่ระหว่างการทดสอบทางคลินิกในการบำบัดมะเร็งและอื่นๆ (Proksch *et al.*, 2002) สิ่งมีชีวิตในทะเลที่ได้รับความสนใจอย่างมาก ได้แก่ ฟองน้ำ (sponges) เพรียงหัวหอม (tunicates) ไบรโอซัว (bryozoans) และมอลลัส (mollusks) รวมถึง แบคทีเรีย (bacteria) และไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) จากทะเล (Donia and Hamann, 2003; Proksch *et al.*, 2003) เช่น การสกัดสาร Halichondrins จากฟองน้ำ *Lissodendoryx* sp. สาร Bryostatins จากไบรโอซัว *Bugula neritina* เป็นต้น (Proksch *et al.*, 2003) สำหรับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถสกัดได้จากเพรียงหัวหอม ได้แก่ สาร Didemnin B จาก เพรียงหัวหอม *Trididemnum* sp. (Rinehart *et al.*, 1981; Canonico *et al.*, 1982) สาร Ecteinascidin (ET) 743 จาก เพรียงหัวหอม *Ecteinascidia turbinata* (Wright *et al.*, 1990; Sakai *et al.*, 1996; Hendriks *et al.*, 1999; Scotto, 2002) และสาร ET 770 และ ET 786 จาก *E. thurstoni* (Charupant, 2000; Suwanborirux *et al.*, 2002) ทั้งนี้ สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Ecteinascidins แสดงในรูปที่ 2-3



ecteinascidins

743 (1a): R = Me, X = OH, Y = none

729 (2): R = H, X = OH, Y = none

759B (3a): R = Me, X = OH, Y = O

770 (1b): R = Me, X = CN, Y = none

ที่มา: Suwanborirux *et al.* (2002)

รูปที่ 2-3. โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Ecteinascidins

2.2 ข้อจำกัดในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทะเล

การนำสิ่งมีชีวิตจากทะเลมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มีข้อจำกัดเนื่องจากปริมาณสารที่สกัดได้เพื่อนำไปใช้น้อย จึงจำเป็นต้องใช้มวลชีวภาพของทรัพยากรธรรมชาติเป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงของทรัพยากร รวมถึง ถิ่นอาศัยและระบบนิเวศนั้นๆ ได้

เช่น การสกัดสาร Halichondrin B ปริมาณ 300 มิลลิกรัม ต้องใช้ฟองน้ำ *Lissodendoryx* sp. 1 ตัน (น้ำหนักเปียก) (Hart *et al.*, 2000) หากประเมินสารสกัดจากฟองน้ำที่นำไปใช้เป็นยาบำบัดโรคมะเร็ง ซึ่งมีความต้องการที่ระดับ 1–5 กิโลกรัม/ปี จำเป็นต้องใช้ฟองน้ำจากธรรมชาติมากถึง 3,000–16,000 เมตริกตัน/ปี ซึ่งหมายถึงเป็นความต้องการในปริมาณที่มากเพียงพอที่สามารถส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและการสูญพันธุ์ของทรัพยากรได้เช่นกัน (Proksch *et al.*, 2003) หรือในกรณีของการนำเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia turbinata* 1 ตัน (น้ำหนักเปียก) จะสามารถสกัดและแยกสาร ET 743 ได้เพียง 1 กรัม เพื่อนำไปใช้บำบัดโรคมะเร็งเท่านั้น (Mendola, 2000) ในขณะที่เพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่พบในจังหวัดภูเก็ต 38 กิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) สามารถนำมาสกัดได้สาร ET 770 และ ET 786 เท่ากับ 225 กรัม และ 60 กรัม ตามลำดับ (Suwanborirux *et al.*, 2002) ซึ่งสาร ET 770 และ ET 786 เป็นสารกลุ่มเดียวกับ ET 743 ที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งโพรงจมูก เป็นต้น นอกจากนั้น สาร ET 770 ยังสามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นที่สามารถเปลี่ยนเป็นสาร ET 743 ได้ในปริมาณสูงถึง 96% (Suwanborirux *et al.* 2002)

ถึงแม้ว่าในปัจจุบัน นักวิจัยสามารถทำการสังเคราะห์สาร ET 743 สาร Halichondrin B สาร Bryostatins หรือสารอื่นๆ ด้วยวิธีการทางเคมีแทนการสกัดจากสิ่งมีชีวิตได้ แต่ยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอีกเป็นจำนวนมากที่ยังไม่สามารถดำเนินการด้วยวิธีดังกล่าว เนื่องจากความซับซ้อนของโครงสร้างโมเลกุล ปริมาณสารที่สังเคราะห์ได้มีน้อย ส่งผลให้ความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจต่ำ (Proksch *et al.*, 2003)

จากเหตุผลดังที่กล่าวมาข้างต้น การเพาะเลี้ยงเชิงอุตสาหกรรมจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการผลิตสัตว์ทะเลที่จะนำไปใช้ในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป (Donia and Hamann, 2003; Proksch *et al.*, 2003) ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับความรู้พื้นฐานทางด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา สภาวะแวดล้อม รวมถึง ปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงด้วย

2.3 ถิ่นที่อยู่ และผลของปัจจัยทางกายภาพ

เพรียงหัวหอม *E. turbinata* พบได้ทั่วไปบริเวณทะเลแคริบเบียนและอ่าวเม็กซิโก ชูออยด์มีความยาวประมาณ 12–18 มิลลิเมตร และมีสีส้มซึ่งเป็นลักษณะเด่น ชูออยด์เหล่านี้มีจำนวนมากนับร้อยตัวต่อโคโลนีและเชื่อมต่อกันด้วย stolon ที่เปรียบเสมือนรากยึดโคโลนีให้ติดกับพื้นผิว

โคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. turbinata* ยึดติดกับพื้นผิวได้หลายแบบตามลักษณะของพื้นที่ เช่น ส่วนรากของต้นไม้โกงกาง กัลปังหา ใบหญ้าทะเล ฟองน้ำ พื้นผิวของหินปูนในแนวปะการัง เป็นต้น รวมถึง วัสดุต่างๆ ที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น เสา ทำเรือ เชือก เป็นต้น โดยพบที่ระดับความลึกตั้งแต่ 0.3–12 เมตร โดยเฉพาะในช่วง 1–3 เมตร (Mendola, 2000; Duckworth *et al.*, 2004) สำหรับเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในประเทศไทย มีรายงานการพบที่จังหวัดภูเก็ตเท่านั้น (Suwanborirux *et al.*, 2002; Chavanich *et al.*, 2005) โดยพบที่สะพานเทียบเรือ สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง จังหวัดภูเก็ต ที่ระดับความลึกประมาณ 1–5 เมตร ซออยด์มีความยาวประมาณ 8–12 มิลลิเมตร พบความหนาแน่นและความชุกชุมมากที่สุดในเดือนมีนาคม กรกฎาคม และ พฤศจิกายนของทุกปี (ปิยะ โกยสิน, 2548; Chavanich *et al.*, 2005)

2.3.1 แสง

โดยปกติ บริเวณที่อยู่ภายใต้ร่มเงาหรือได้รับแสงแค่น้อย จะมีโอกาสพบสิ่งมีชีวิตประเภทเกาะติดอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก (Kennelly, 1989; Duggins *et al.*, 1990) พื้นที่ร่มเงาไม่ได้จำกัดเฉพาะพื้นที่ธรรมชาติเท่านั้น แต่รวมถึงสิ่งก่อสร้างที่มนุษย์สร้างขึ้นที่ไปบังพื้นที่รับแสงในทะเลด้วย สิ่งมีชีวิตกลุ่มเด่นที่พบบริเวณที่มีร่มเงาตลอดเวลาในทะเล ได้แก่ โพลีคีต ฟองน้ำ เพรียงหัวหอม ไบรโอซัว เป็นต้น ขณะที่ บริเวณที่ไม่มีร่มเงาตลอดเวลา เช่น เสาสะพาน หิน พบสิ่งมีชีวิตกลุ่มเด่น ได้แก่ โพลีคีต และ สาหร่าย อย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มร่มเงาในบริเวณที่มีร่มเงาเล็กน้อยให้มากขึ้น จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสิ่งมีชีวิตกลุ่มเด่นในบริเวณนั้นที่เข้ามาแทนที่ ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกับบริเวณที่มีร่มเงาตลอดเวลา เมื่อระยะเวลาผ่านไปได้ 9 เดือน (Glasby, 1999)

ทำนองเดียวกัน แสง ความเค็ม อุณหภูมิ และปัจจัยทางกายภาพอื่น มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของเพรียงหัวหอมด้วยเช่นกัน โดยพบว่า แสงมีผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ การปล่อยตัวอ่อน หรือกระบวนการลงเกาะบนพื้นผิวของเพรียงหัวหอม แสงและความเค็มมีผลต่อการกระจายของเพรียงหัวหอม แสงและแรงโน้มถ่วงมีอิทธิพลต่อการว่ายน้ำของตัวอ่อน หรือ อุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อพัฒนาการของเพรียงหัวหอม เป็นต้น (ปิยะ โกยสิน, 2548; Anderson *et al.*, 1975; Svane and Dolmer, 1995; Young and Vazquez, 1995; Degnan *et al.*, 1996; Thiagarajan and Qian, 2003; Bates, 2005; Chavanich *et al.*, 2005; Forward *et al.*, 2000; Lambert, 2005)

เพรียงหัวหอม *Polyandrocarpa zorritensis* ซึ่งอาศัยร่วมกันเป็นโคโลนี มีพฤติกรรมการปล่อยตัวอ่อนเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความเข้มแสงมากขึ้น หลังจากดำรงชีวิตในที่ที่มีระยะเวลาหนึ่ง โดยเพรียงหัวหอมดังกล่าวใช้เวลาในการปล่อยตัวอ่อนตัวแรกนานขึ้น ระยะเวลาโดยเฉลี่ยในการปล่อยตัวอ่อนสูงขึ้น และระยะเวลาการปล่อยตัวอ่อนทั้งหมดเพิ่มขึ้นเช่นกัน เมื่อความเข้มแสงลดลง ทั้งนี้ ตัวอ่อนมีพฤติกรรมถูกดึงดูดโดยแสง (phototaxis) โดยมีอวัยวะรับสัมผัสที่ส่วนหัว

ได้แก่ ocellus และ statocyst ซึ่งโดยทั่วไปการถูกค้ำด้วยแสงเริ่มขึ้นในช่วงแรกของพัฒนาการ หลังจากนั้นพฤติกรรมการหนีแสงจึงเกิดขึ้นเมื่อพัฒนาการของระยะตัวอ่อนใกล้สิ้นสุด (Forward *et al.*, 2000)

การศึกษาอิทธิพลของแสงที่มีผลต่อการลงเกาะบนพื้นผิว และระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) ของเพรียงหัวหอม ซึ่งส่งผลตามมาต่อการกระจายตามธรรมชาติ พบว่าเพรียงหัวหอม *Ascidia mentula* มีพฤติกรรมเลือกลงเกาะบนพื้นผิวที่มีดโดยสามารถตอบสนองต่อแสงที่ความเข้มแสงต่ำ (6×10^{14} Quanta/s/m² หรือประมาณ 0.1 Lux) และสามารถพบการกระจายของตัวเต็มวัยได้ในบริเวณพื้นที่เดียวกันที่มีความเข้มแสงต่ำ (Svane and Dolmer, 1995) สอดคล้องกับพฤติกรรมการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่ตอบสนองการลงเกาะบนพื้นผิวในส่วนที่มีดมากกว่าส่วนที่สว่างถึง 3 เท่า (76% ของทั้งหมด) อย่างไรก็ตาม เมื่อนำตัวอ่อนมากระตุ้นให้ลงเกาะด้วยการปล่อยลงในน้ำจืดเป็นเวลาประมาณ 60 วินาที พบว่า ตัวอ่อนเลือกลงเกาะโดยอิสระบนพื้นผิวที่แบ่งออกเป็นสองส่วนที่เท่ากัน (มีดและสว่าง) ไม่แตกต่างกัน ซึ่งอาจมีผลมาจาก การที่น้ำจืดทำให้ประสิทธิภาพของอวัยวะที่ตอบสนองต่อแสงของเพรียงหัวหอมลดน้อยลง นอกจากนั้น การกระตุ้นตัวอ่อนด้วยน้ำจืดยังทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการลงเกาะบนพื้นผิวของเพรียงหัวหอมเร็วขึ้น (ปิยะ โกยสิน, 2548)

2.3.2 อุณหภูมิ และความเค็ม

กรณีปัจจัยของอุณหภูมิและความเค็มนั้น พบว่า เพรียงหัวหอม *Styela plicata* ซึ่งเป็นเพรียงหัวหอมที่ดำรงชีวิตเป็นตัวเดี่ยวที่พบทั่วไปในพื้นที่ปกครองพิเศษฮ่องกง (Thiyagarajan and Qian, 2003) เมื่อนำมาทำการเพาะเลี้ยงโดยควบคุมปัจจัยความเค็มและอุณหภูมิพบว่า ทั้งความเค็มและอุณหภูมิมีผลต่อระยะเอ็มบริโอของเพรียงหัวหอม โดยความเค็มมีผลต่อระยะเวลาพัฒนาการของระยะเอ็มบริโอมากกว่าอุณหภูมิ ความเค็มและอุณหภูมิมีปฏิสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน โดยไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วไม่สามารถพัฒนาการต่อไปได้ที่ระดับความเค็มต่ำ (22 และ 26 พีเอสยู) ในขณะที่ที่ระดับความเค็มสูง (30 และ 34 พีเอสยู) หากอุณหภูมิลดลงเอ็มบริโอใช้เวลาพัฒนาการนานขึ้น แต่ที่ระดับความเค็มสูง (30 และ 34 พีเอสยู) แม้อุณหภูมิจะต่างกันก็ไม่มีผลต่ออัตราการรอดของเอ็มบริโอ (Thiyagarajan and Qian, 2003) เมื่อศึกษากับตัวอ่อน *S. plicata* พบว่าความเค็มและอุณหภูมิไม่มีผลต่อพัฒนาการและการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยตัวอ่อนที่ทำการลงเกาะบนพื้นผิวมีพัฒนาการและเปลี่ยนแปลงรูปร่างทุกระดับความเค็มและอุณหภูมิได้ไม่แตกต่างกัน (>5 เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตาม ตัวอ่อนใช้เวลานานขึ้นในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างที่ความเค็มต่ำ (Thiyagarajan and Qian, 2003) ซึ่งรูปแบบพัฒนาการของระยะเอ็มบริโอและการเติบโตของตัวอ่อน *S. plicata* นี้สอดคล้องกับที่มีการศึกษาในเพรียงหัวหอมชนิดอื่น (Anderson *et al.*, 1975; Young and Vazquez, 1995; Degnan *et al.*, 1996)

2.4 การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมเพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

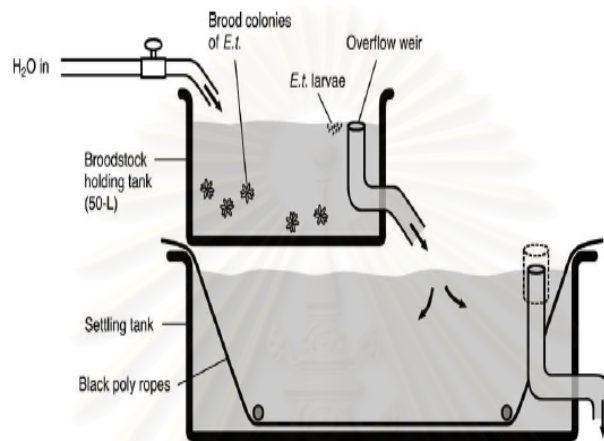
การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมหรือสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังอื่นเชิงอุตสาหกรรม โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มีรายงานไม่มากนัก เช่น การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอม ไบรโอซัว หรือฟองน้ำ เป็นต้น (Mendola, 2003; Page *et al.*, 2005) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่ได้นำผลที่ได้จากการวิจัยพื้นฐานด้านต่างๆ มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงให้ได้ผลผลิตของสิ่งมีชีวิตที่เลี้ยงสูงสุด และให้เพียงพอต่อความต้องการที่จะนำไปสกัดสารดังกล่าวต่อไป

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงฟองน้ำที่มีลักษณะแตกต่างตามโครงสร้างพื้นฐานวิทยา 3 ชนิด ได้แก่ *Psammocinia hawere*, *Raspailia agminata* และ *R. topsenti* พบว่า มีศักยภาพสูงในการเพาะเลี้ยงเชิงอุตสาหกรรมเพื่อนำไปผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งเป็นการป้องกันและลดปัญหาการใช้ประโยชน์จากประชากรฟองน้ำตามธรรมชาติด้วยเช่นกัน (Duckworth *et al.*, 1997) ฟองน้ำ *P. hawere* ซึ่งมีลักษณะพื้นฐานวิทยาเป็นก้อนและรูปทรงคล้ายถ้วย (massive cup shape fibrous sponge) มีอัตราการเติบโตที่ดีและอัตราการรอดสูงเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในที่ลึกในฤดูหนาว ซึ่งเป็นผลจากการที่ความเข้มข้นแสงอุลตราไวโอเลตและอุณหภูมิของน้ำต่ำ ช่วยให้ฟองน้ำสามารถรักษาแผลที่ถูกตัดจากการนำไปย้ายปลูกได้อย่างรวดเร็ว ในทางตรงข้าม ฟองน้ำมีอัตราการตายสูงขึ้นบริเวณที่ตื้นที่มีความเข้มข้นแสงสูงในช่วงฤดูร้อน อาจเนื่องมาจาก แสงมีส่วนช่วยให้สาหร่ายเติบโตได้ดี และสาหร่ายสามารถขึ้นปกคลุมฟองน้ำได้อย่างรวดเร็ว (Kaandorp and de Kluijver, 1992) รวมถึง แสงทำให้อัตราการรักษาแผลที่เกิดจากการตัดขาดลง (Hoppe, 1998) นอกจากนั้นการที่ฟองน้ำ *R. agminata* มีอัตราการเติบโตสูงที่สุดนั้น อาจเนื่องมาจากเป็นฟองน้ำเคลือบที่มีลักษณะพื้นฐานเปลี่ยนแปลงตามลักษณะของพื้นผิว ซึ่งอัตราการเติบโตและอัตราการรอดสูงที่สุดนี้ได้รับอิทธิพลจากพื้นที่ศึกษาด้วย เช่น บริเวณที่คลื่นลมสงบ หรือ อับคลื่นลม เนื่องจากหากเป็นสถานที่ที่ได้รับอิทธิพลจากคลื่นลมแรง พบว่าฟองน้ำ *R. agminata* มีน้ำหนักลดลงและมีอัตราการตายสูงเช่นเดียวกับในพื้นที่เพาะเลี้ยงฟองน้ำ *R. topsenti* ที่มีคลื่นลมแรงทำให้การเพาะเลี้ยงไม่ประสบความสำเร็จ (Duckworth *et al.*, 1997) ในการทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Mycale hentscheli* เพื่อผลิตสาร mycalamide A สาร pateamine และสาร peloruside A โดยเปรียบเทียบการเลี้ยงขึ้นของฟองน้ำที่ตัดแบ่งออกมาจากก้อนฟองน้ำตั้งต้นในสถานที่แตกต่างกัน ได้แก่ บริเวณที่พบฟองน้ำชนิดนี้ตามธรรมชาติซึ่งได้รับอิทธิพลจากแม่น้ำ และบริเวณที่อุณหภูมิของน้ำไม่เปลี่ยนแปลงมากนักเนื่องจากการผสมมวลน้ำโดยลม พบว่า ฟองน้ำที่เลี้ยงในทั้งสองบริเวณ มีการเติบโตที่ดีและไม่พบความแตกต่างทางสถิติ โดยการเติบโตลดลงในช่วงฤดูหนาวและเพิ่มสูงขึ้นตามอุณหภูมิของน้ำในฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน นอกจากนี้ ยังสามารถให้ผลผลิตสารภายหลังการเลี้ยงได้ โดยเฉพาะ สาร

mycalamide A และสาร pateamine สำหรับ ปริมาณการผลิตสาร peloruside A ที่แตกต่างกัน อาจมีผลมาจากสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยงต่างกันได้เช่นกัน (Page *et al.* 2005)

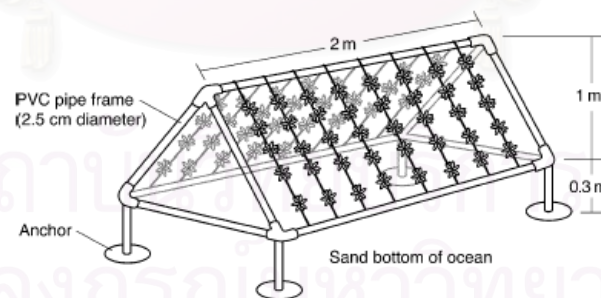
ดังนั้น เพื่อลดปัจจัยจากธรรมชาติ และควบคุมปัจจัยการเพาะเลี้ยงให้มีประสิทธิภาพสูงสุด จึงมีการนำการเลี้ยงในระบบเลี้ยงมาใช้ Mendola (2003) รายงานการเลี้ยงฟองน้ำ *Acanthella cavernosa* ที่นำมาจากประเทศฟิจิมาทำการเลี้ยงในระบบเลี้ยงที่รัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา พบว่า อัตรารอดของฟองน้ำ *A. cavernosa* ภายหลังการเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน สูงถึง 81 เปอร์เซ็นต์ และให้สาร kalihinanes 3 ชนิด รวม 0.48 ± 0.007 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) นอกจากนั้น จากการทดสอบสภาวะเครียดโดยเพิ่มปริมาณแสงจากปกติ พบว่า ผลผลิตของ kalihinanes ไม่เพิ่มขึ้นตาม ทฤษฎีการเพิ่มภาวะเครียดที่ทำให้ฟองน้ำหรือสิ่งมีชีวิตอื่นที่สามารถผลิตสารธรรมชาติ เพื่อป้องกัน ตนเองเพิ่มขึ้น แต่ค่าดังกล่าวกลับลดลง อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้บ่งบอกถึงความเป็นไปได้ในการ เลี้ยงฟองน้ำให้มีอัตราการเติบโตและอัตราอดสูง การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมเชิงอุตสาหกรรม เริ่มขึ้นหลังจากที่มีการค้นพบการสกัดสาร Ecteinascidins เพื่อใช้บำบัดโรคมะเร็งจากเพรียงหัวหอม *E. turbinata* โดยมีรายงานการเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอม *E. turbinata* ในระบบเลี้ยงและในทะเลที่มล รัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา (Mendola 2000, 2003) การเลี้ยงในระบบเลี้ยงอาศัยน้ำทะเลธรรมชาติ หมุนเวียนอย่างต่อเนื่อง ให้อาหารแตกต่างกัน 3 ประเภท ได้แก่ สาหร่ายมีชีวิต อาหารสำเร็จรูปแบบ micro-encapsulated และ micro-particulate ผสมเข้าด้วยกัน วันละ 2 ครั้ง รวบรวมพ่อแม่พันธุ์ เพรียงหัวหอมที่สมบูรณ์เพศจากธรรมชาติมาเลี้ยงไว้ในถังพ่อแม่พันธุ์ขนาด 50 ลิตร และทำการ รวบรวมตัวอ่อนเมื่อถูกปล่อยออกจากพ่อแม่พันธุ์โดยอาศัยพฤติกรรมการตอบสนองต่อแสงของตัว อ่อน ตัวอ่อนในระยะแรกว่ายอยู่บริเวณผิวน้ำเนื่องจากอิทธิพลของแสง จึงทำการปล่อยให้มันลื่นพา ตัวอ่อนลงมาตามท่อลงสู่ถังที่จัดให้ตัวอ่อนลงเกาะที่บริเวณเชือกด้านล่าง (รูปที่ 2-4) เนื่องจากตัว อ่อนที่ถึงระยะทำการลงเกาะมีพฤติกรรมหนีแสง จึงว่ายน้ำเข้าหาบริเวณที่มีมืดกว่าและทำการลงเกาะ บนเชือกดังกล่าว ทั้งนี้ พบว่า อัตราการลงเกาะของตัวอ่อนทั้งหมดสูงกว่า 86 เปอร์เซ็นต์ หลังจาก นั้นจึงเริ่มกินอาหารและเติบโตจาก zooid เริ่มต้น พร้อมกับแตกหน่อกลายเป็นโคโลนีขนาดเล็ก ภายใน 45-60 วัน ทำการย้ายเชือกที่เพรียงหัวหอมได้ลงเกาะไปเลี้ยงในทะเลโดยใช้ท่อพีวีซีเป็น โครงสร้างยึดติดบนพื้นทะเล ซึ่งเคลือบสารป้องกันสัตว์อื่นมาเกาะติดบนที่ว่างบนเชือก (รูปที่ 2-5) โคโลนีเริ่มต้นเติบโตอย่างรวดเร็วโดยการแตกหน่อคลุมเส้นเชือก ยาว 1.2 เมตร ในระยะเวลาที่สั้น ที่สุดที่ 35 วัน (ช่วงระยะเวลาเฉลี่ยในทุกฤดูกาล 45-90 วัน) คิดเป็นมวลชีวภาพโดยเฉลี่ยของเพรียง หัวหอม 400 กรัม (น้ำหนักเปียก) ต่อความยาวเชือก 1 เมตร รอบการเลี้ยงโดยเฉลี่ย 60 วัน หรือ 6 รอบต่อปี ผลผลิตเฉลี่ยโดยรวม 1 ปี เท่ากับ 1,200 กรัมต่อเส้นเชือก หรือผลผลิตทั้งโครงการ 16,000 กิโลกรัม/เฮกเตอร์ เมื่อคำนวณผลผลิตการสกัดสารกลุ่ม ET ซึ่งอยู่ระหว่าง 1.0-8.6 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) พบว่ามีค่าสูงกว่าผลผลิตที่ได้จากเพรียงหัวหอมธรรมชาติที่อยู่ระหว่าง 16-138 กรัม/ปี (Mendola, 2003) สำหรับการเลี้ยงในระบบเลี้ยงบนบก พบว่า ผลผลิตและระยะเวลาใน

การเลี้ยงสอดคล้องกับการนำไปเลี้ยงในทะเล (350–500 กรัม ภายใน 35–45 วัน) อย่างไรก็ตาม การที่ผลผลิตของบางชุดทดลองต่ำอาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของอาหารต่ำเกินไป หรือ มีก๊าซ เช่น H_2S เกิดขึ้นภายในบ่อเลี้ยง อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างระบบการเลี้ยงแล้ว การเลี้ยงในระบบเลี้ยงมีอัตราการรอดสูง มีผู้ล่าและสิ่งมีชีวิตอื่นน้อย ในขณะที่ระยะเวลาในการเจริญพันธุ์ นานกว่า (90–120 วัน) ในการเลี้ยงในทะเล (60–90 วัน) (Mendola, 2003)



ที่มา: Mendola (2003)

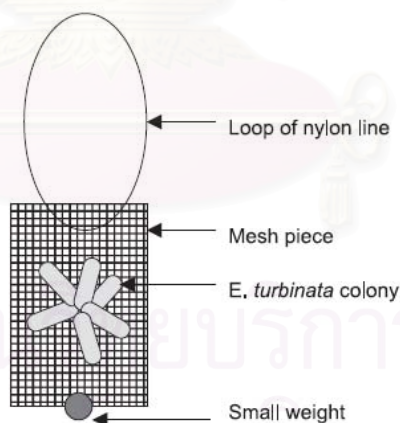
รูปที่ 2-4. ระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์และถึงรวบรวมตัวอ่อนเพรียงหัวหอม *E. turbinata* บนบก



ที่มา: Mendola (2003)

รูปที่ 2-5. ระบบเลี้ยงเพรียงหัวหอม *E. turbinata* ในทะเล

อาหาร เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีการศึกษาเพื่อเพิ่มผลผลิตในการเติบโต รวมถึงปริมาณสารชีวภาพที่สกัด โดยแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิดได้แก่ *Chaetoceros gracilis*, *Isocrysis galbana* และ *Nanochlorosis* sp. ถูกนำมาใช้ในการเลี้ยงเพรียงหัวหอม *E. turbinata* โดยทำการคัดแยกโคโลนีเพรียงหัวหอมให้มีขนาดเล็กลงที่จำนวนซูอยด์โคโลนีละ 20 ซูอยด์โดยประมาณ นำไปผูกติดกับตาข่ายในลอนขนาด 3 x 6 ตารางเซนติเมตร ที่มีช่องตาข่าย 1 มิลลิเมตร (รูปที่ 2-6) มัดโคโลนีด้วยเชือกเพื่อช่วยในการยึดเกาะของ stolon ระยะแรก นำไปแขวนในแนวตั้งที่ระดับกลางน้ำในตู้เลี้ยงขนาด 25 x 29 x 41 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำทะเลธรรมชาติ 15 ลิตร ควบคุมสภาพแวดล้อมให้คล้ายคลึงกับธรรมชาติที่รวบรวมตัวอย่างดังกล่าว ซึ่งพบว่า การเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. turbinata* สูงสุดอยู่ที่การได้รับ *I. galbana* เป็นอาหารเพียงชนิดเดียว หรือได้รับร่วมกับการให้ *C. gracilis* ที่ระดับความหนาแน่นเซลล์ 80,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งอาจเป็นผลมาจากแพลงก์ตอนทั้งสองชนิดนี้มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมต่อเพรียงหัวหอม เมื่อเพิ่มระดับความหนาแน่นของแพลงก์ตอนให้สูงขึ้น พบว่า จำนวนซูอยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอมมีค่ามากที่สุดเมื่อเพิ่มระดับความหนาแน่นของอาหารให้มากขึ้น (160,000 และ 320,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่ความยาวสุดท้ายของซูอยด์สูงสุดอยู่ที่กลุ่มที่ได้รับ *C. gracilis* ร่วมกับ *I. galbana* เช่นกัน ซึ่งส่งผลต่อการผลิตสาร ET อย่างมีนัยสำคัญ กลุ่มที่ได้รับเซลล์แพลงก์ตอนที่ระดับความหนาแน่นสูงสุดทั้ง 2 กลุ่ม ให้สาร ET มากกว่าเดิมถึง 10 เท่า ใน 31 วัน (Duckworth *et al.*, 2004)



ที่มา: Duckworth *et al.* (2004)

รูปที่ 2-6. แบบจำลองในการเลี้ยงเพรียงหัวหอม *E. turbinata* บนตารางในลอน

สำหรับประเทศไทย มีการศึกษาเกี่ยวกับเพรียงหัวหอมน้อยมาก นอกเหนือจากรายงานการพบเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* และการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (สาร ET) แล้ว (Charupant, 2000; Suwanborirux *et al.*, 2002; Chavanich *et al.*, 2005) มีเพียงการศึกษาชีววิทยาบางประการ

ของเพรียงหัวหอม เช่น วงจรชีวิต พัฒนาการของตัวอ่อน พฤติกรรมการลงเกาะและหลังการลงเกาะ เพื่อการเพาะเลี้ยงเท่านั้น (ปิยะ โกยสิน, 2548) การศึกษาปัจจัยทางกายภาพ เช่น แสง ความเต็ม อุดหนุนิ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมในการผลิตสาร ET ให้เพียงพอับความต้องการจึงมีความจำเป็นอย่างมากในอนาคตต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง สถานที่วิจัย และระบบการเลี้ยง

ทำการเก็บเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 (รูปที่ 3-1) ธรรมชาติจากบริเวณท่าเทียบเรือสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน จังหวัดภูเก็ต (สวพ ภูเก็ต) มาเลี้ยงภายในถังเลี้ยงทรงกลมขนาด 500 ลิตร ในโรงเพาะเลี้ยงสถานีวิจัยสัตว์ทะเล อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี โดยใช้ระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิด (รูปที่ 3-2)



ที่มา: Chavanich *et al.* (2005)

รูปที่ 3-1. เพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891



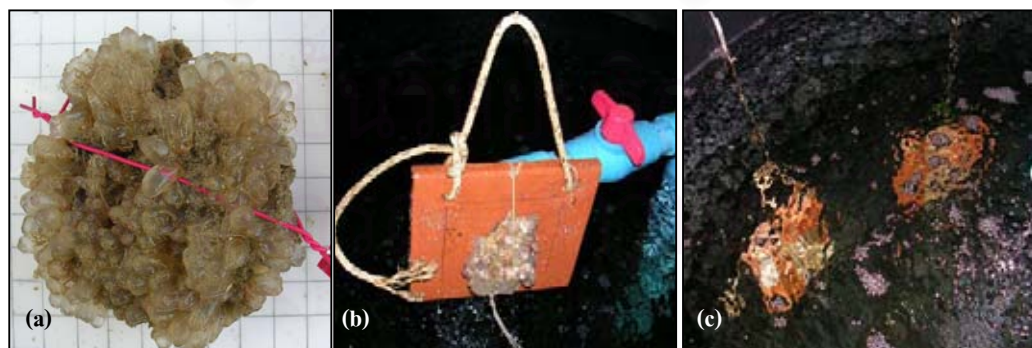
รูปที่ 3-2. โรงเพาะเลี้ยง สถานีวิจัยสัตว์ทะเล อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

3.2 ขั้นตอนการวิจัย รวบรวม และวิเคราะห์ข้อมูล

แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ศึกษาผลของแสงต่อการเติบโต ศึกษาผลของความเค็มต่อการเติบโต และศึกษาผลของแสงและความเค็มที่มีต่อการผลิตสาร Ecteinascidins (ET) โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.2.1 ผลของแสงต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ทำการเก็บเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีโดยเฉลี่ยประมาณ 7 เซนติเมตร จำนวน 25 โคโลนี นับจำนวนตัวของเพรียงหัวหอม (ชูออยด์) พร้อมบันทึกถ่ายภาพโคโลนีเริ่มต้นบนกรอบสี่เหลี่ยมขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร (รูปที่ 3-3a) ยึดโคโลนีเพรียงหัวหอมติดกับแผ่นกระเบื้องดินเผาทรงสี่เหลี่ยมขนาด 15 x 15 ตารางเซนติเมตร (รูปที่ 3-3b) นำไปแขวนในถังเลี้ยงที่บรรจุน้ำทะเล 500 ลิตร ควบคุมระดับความเค็มที่ 32 พีเอสยู ตามระดับความเค็มของน้ำทะเลที่เก็บตัวอย่าง (รูปที่ 3-3c) กำหนดชุดการทดลองตามระดับความเข้มแสงที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 2, 4, 6 และ 8 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ หรือคิดเป็น 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของระดับความเข้มแสงในโรงเพาะเลี้ยงตามลำดับ (ความเข้มแสงที่ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุม) โดยกำหนดช่วงเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง ทุกวัน ทั้งนี้ แต่ละชุดการทดลองมีเพรียงหัวหอมจำนวน 5 โคโลนี ให้แพลงก์ตอนพืช *Chaetoceros* sp. เป็นอาหารวันละ 1 ครั้ง ที่ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นมีค่า 3×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นปริมาณ 1.5 ลิตร ต่อถัง การให้ *Chaetoceros* sp. เป็นอาหารเนื่องจากในการศึกษาเบื้องต้นเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่ได้รับแพลงก์ตองดังกล่าวเป็นอาหารมีการเติบโตดี ระยะเวลาในการเลี้ยง 2 รอบวงจรชีวิต โดยทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำพร้อมทำความสะอาดคอนภายในถังเลี้ยงสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และบันทึกข้อมูลการเติบโตสัปดาห์ละ 2 ครั้ง



รูปที่ 3-3. ลักษณะการเลี้ยงเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในถังเลี้ยง

- (a) การบันทึกพื้นที่ปกคลุมของโคโลนีบนกรอบสี่เหลี่ยมขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร
- (b) โคโลนีที่นำมายึดติดกับแผ่นกระเบื้องขนาด 15 x 15 ตารางเซนติเมตร
- (c) การแขวนโคโลนีที่ยึดติดกับแผ่นกระเบื้องในถังเลี้ยง

ทั้งนี้ ข้อมูลการเติบโตที่ทำการบันทึก มีดังนี้

- 1) บันทึกความยาวของเพรียงหัวหอมแต่ละโคโลนีโดยการสุ่มวัดขนาดความยาวของชูอยด์เพรียงหัวหอม เป็นจำนวนไม่ต่ำกว่า 10% ของโคโลนีนั้นๆ
- 2) นับจำนวนชูอยด์เพรียงหัวหอมในแต่ละโคโลนี
- 3) พื้นที่ปกคลุมพื้นผิว ซึ่งหมายถึง เปอร์เซ็นต์การปกคลุมพื้นผิวของเพรียงหัวหอม ทำการคำนวณพื้นที่โดยบันทึกภาพเพรียงหัวหอมในกรอบสี่เหลี่ยมขนาด 10 x 10 ตารางเซนติเมตร และนำภาพดังกล่าวไปวิเคราะห์โดยคำนวณพื้นที่ปกคลุมด้วยโปรแกรม ENVI

3.2.2 ผลของความเค็มต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ทำการศึกษาด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 2.1 โดยเปลี่ยนปัจจัยจากแสงเป็นความเค็ม โดยเลี้ยงเพรียงหัวหอมในระดับความเค็มที่แตกต่างกัน 5 ระดับที่ 26, 29, 32, 35 และ 38 พีเอสยู ตามลำดับ โดยระดับความเค็มที่ 32 พีเอสยู เป็นระดับความเค็มปกติในธรรมชาติ ให้ความเข้มแสงตามธรรมชาติ

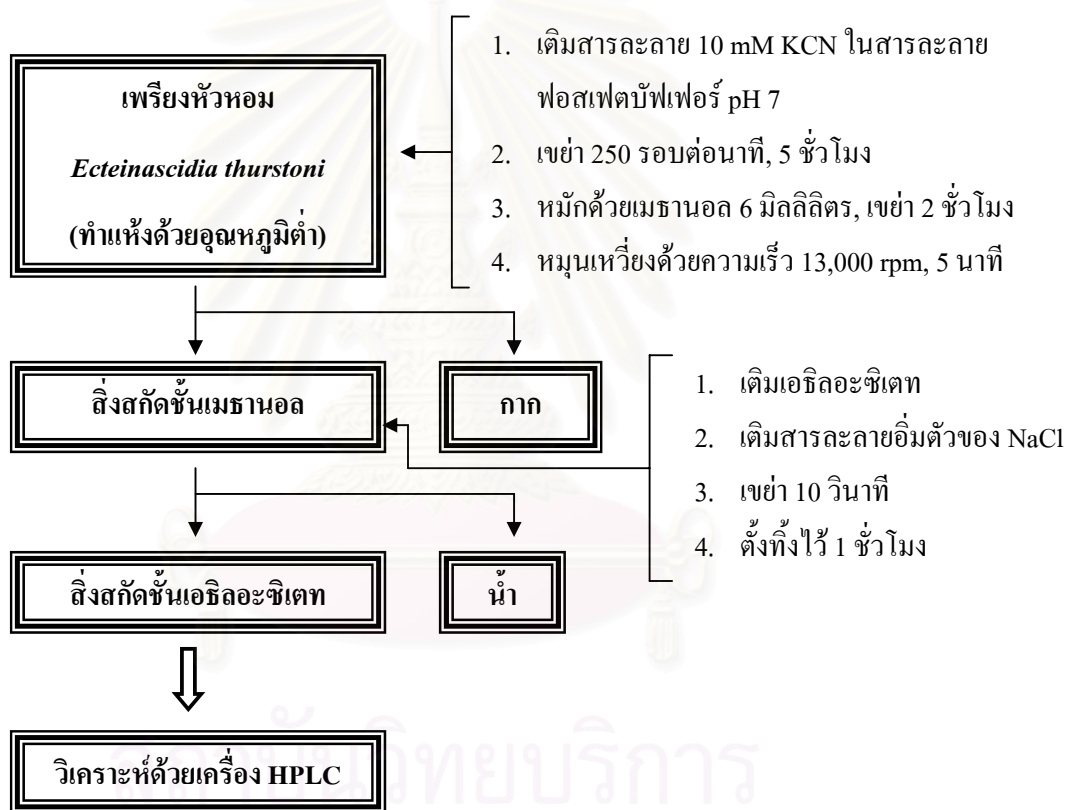
3.2.3 ผลของแสงและความเค็มต่อการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

เก็บตัวอย่างทั้งหมดของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* จากที่ทำการเลี้ยงเมื่อครบ 2 รอบวงชีวิตมาทำการสกัดหาปริมาณสาร Ecteinascidins (ET) เพื่อเปรียบเทียบผลของปัจจัยแสงและความเค็มที่มีต่อการผลิตสารดังกล่าว แบ่งขั้นตอนการศึกษออกเป็น การสกัดแยกสาร ET 770 และการวิเคราะห์ปริมาณสาร ET 770 ตามรูปที่ 3.4 ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ นกรรณพ บุญถนอม และปิติ จันทวรรณจิต (2544); Charupant (2000); Suwanborirux *et al.* (2002) โดยมีรายละเอียดดังนี้

1) วิธีการสกัดสาร ET 770 จากเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

- (1.1) นำตัวอย่างเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ใส่ในขวดแก้วขนาดเล็ก
- (1.2) นำมาบดให้ละเอียดภายหลังผ่านกระบวนการทำให้แห้งด้วยอุณหภูมิต่ำ (Freeze drier)
- (1.3) เติมสารละลาย 10 mM KCN ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร
- (1.4) sonicate เป็นเวลา 5 นาที
- (1.5) ทำการเขย่าให้สารละลายกับตัวอย่างที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 ชั่วโมง
- (1.6) หมักด้วยเมธานอล 6 มิลลิลิตร แล้วทำการเขย่าต่ออีก 2 ชั่วโมง
- (1.7) นำตัวอย่างที่ได้นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
- (1.8) คูณสิ่งที่สกัดได้จากชั้นเมธานอล 4 มิลลิลิตร นำมาเติมเอทิลอะซิเตต (EtOAc) 3 มิลลิลิตร และ brine (สารละลายอิ่มตัวของ NaCl) 11 มิลลิลิตร

- (1.9) นำไปแช่ 10 วินาที แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแยกชั้นระหว่างเอทิลอะซิเตทกับน้ำ
- (1.10) ทำการดูดสิ่งตกตะกอนได้จากชั้นเอทิลอะซิเตทอีก 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วขนาดเล็ก
- (1.11) เติม anhydrous Na_2SO_4 40 มิลลิกรัม เพื่อกำจัดน้ำที่อาจปนค้างอยู่ในสารสกัดดังกล่าว
- (1.12) ดูดสิ่งตกตะกอนได้จากชั้นเอทิลอะซิเตทที่กำจัดน้ำแล้ว 1 มิลลิลิตร ใส่ใน eppendorf
- (1.13) นำสารสกัดที่ได้ไปเป่าให้แห้งโดยใช้ N_2 ได้สาร dried crude EtOAC extract



รูปที่ 3-4. การสกัดแยกสาร Ecteinascidins จากเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* (ดัดแปลงจากวิธีการของ นกรรณพ บุญถนอม และ ปิติ จันทรรวจิต (2544); Charupant (2000); Suwanborirux *et al.* (2002))

2) การวิเคราะห์ปริมาณสาร ET 770

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสาร ET 770 โดยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งประกอบด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐาน ET 770 พร้อมทั้ง วิเคราะห์ปริมาณของสาร ET 770 ที่ได้จากเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* โดยกำหนดสภาวะเครื่อง HPLC ที่ใช้ในการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Suwanborirux *et al.* (2002) โดยมีรายละเอียดตามตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1. สภาวะของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร Ecteinascidins จากเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

หัวข้อ	รายละเอียด	หมายเหตุ
Column	Hewlett Packard ODS Hypersil 5 μ m, 125 x 4 mm	
Solvent system	Methanol : Phosphate buffer	อัตราส่วน 60:40
Injection volume	100 μ l	
Flow rate	1 ml/min	
Diode array UV detector	ความยาวคลื่น 286 nm	

3.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย One Way ANOVA Tukey-Pairwise Mean Comparison เพื่อเปรียบเทียบ ผลของแสงและความเค็มต่อการเติบโตและการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม รวมทั้งวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของความยาวชูออยด์ จำนวนชูออยด์ และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอมโดย Independent Samples T-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของความยาวชูออยด์ จำนวนชูออยด์ และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอม ในแต่ละวงชีวิตโดย Chi-Square Test

บทที่ 4

ผลการศึกษา

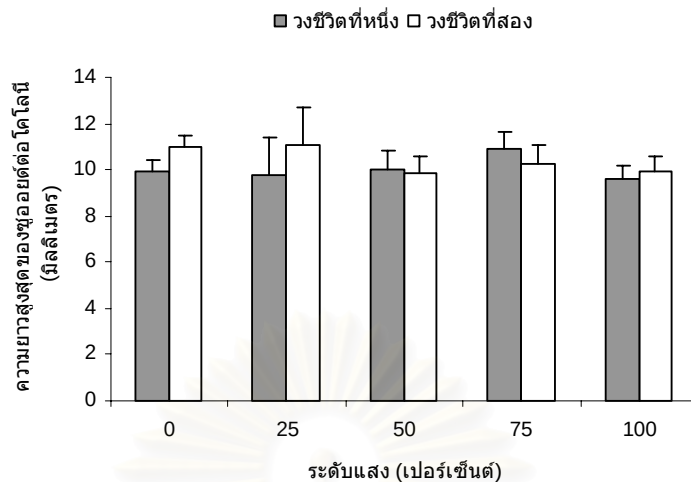
4.1 ผลของแสงต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

(4.1.1) ผลของแสงต่อการเติบโตของความยาวซุอยด์

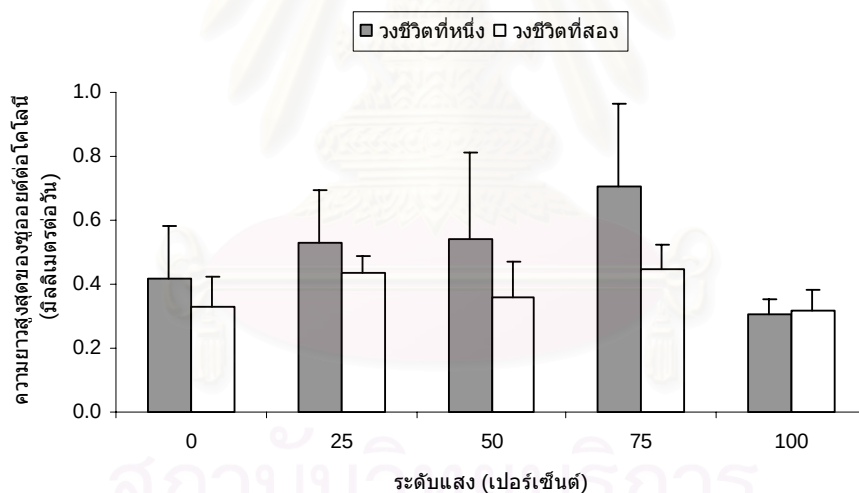
จากการศึกษาผลของแสงต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* พบว่า ในวงชีวิตที่หนึ่ง กลุ่มที่ได้รับแสงที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ มีการเติบโตของความยาวสูงสุด (10.9 ± 0.8 มิลลิเมตร) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับแสงในระดับอื่น ในขณะที่วงชีวิตที่สอง กลุ่มที่ได้รับแสงที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ มีการเติบโตของความยาวสูงสุด (11.1 ± 4.2 มิลลิเมตร) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับแสงในระดับอื่นเช่นกัน (ตารางที่ 4-1 และ รูปที่ 4-1) ทั้งนี้ ช่วงอายุสั้นที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีความยาวสูงสุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสองมีค่า 33.7 ± 7.5 และ 24.7 ± 5.6 วัน ในกลุ่มที่ได้รับแสง 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ช่วงอายุยาวที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีความยาวสูงสุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสองมีค่า 55.0 ± 26.4 และ 54.0 ± 18.2 วัน ในกลุ่มที่ได้รับแสง 75 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4-1) นอกจากนั้น เมื่อเปรียบเทียบการเติบโตต่อวันของความยาวซุอยด์ พบว่า กลุ่มที่ได้รับแสง 75 เปอร์เซ็นต์ ให้การเติบโตที่ดีที่สุดในวงชีวิตที่หนึ่ง (0.70 ± 0.26 มิลลิเมตรต่อวัน) และวงชีวิตที่สอง (0.45 ± 0.07 มิลลิเมตรต่อวัน) ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับแสงเต็มที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้การเติบโตต่ำที่สุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสองเช่นกัน (0.31 ± 0.04 และ 0.32 ± 0.06 มิลลิเมตรต่อวัน ตามลำดับ) แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลองที่ระดับแสงต่างๆ (รูปที่ 4-2)

ตารางที่ 4-1. อายุของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* เปรียบเทียบกับความยาวสูงสุดของซุอยด์ต่อโคโลนีในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

ระดับแสง (เปอร์เซ็นต์)	วงชีวิตที่หนึ่ง		วงชีวิตที่สอง	
	ความยาวสูงสุด (มิลลิเมตร)	อายุ (วัน)	ความยาวสูงสุด (มิลลิเมตร)	อายุ (วัน)
0	9.9 ± 0.5	41.8 ± 10.7	11.0 ± 0.5	54.0 ± 18.2
25	9.7 ± 1.6	37.8 ± 17.7	11.1 ± 4.2	27.0 ± 13.0
50	10.0 ± 0.8	33.7 ± 7.5	9.8 ± 0.4	41.8 ± 18.0
75	10.9 ± 0.8	55.0 ± 26.4	10.3 ± 1.1	24.7 ± 5.6
100	9.6 ± 0.6	34.2 ± 4.6	10.0 ± 0.7	35.6 ± 5.8



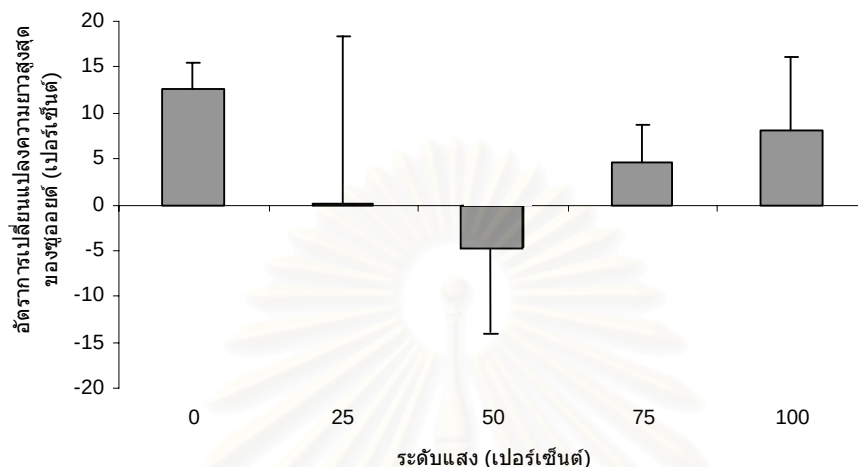
รูปที่ 4-1. ความยาวสูงสุดของซุออยด์ต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



รูปที่ 4-2. การเติบโตต่อวันของซุออยด์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงความยาวสูงสุดของซุออยด์จากวงชีวิตที่หนึ่งไปสู่วงชีวิตที่สองในการเลี้ยง พบว่า กลุ่มที่ไม่ได้รับแสง มีอัตราการเปลี่ยนแปลงในทางบวกสูงสุด (12.7 ± 2.7 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับแสง 50 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงสูงสุดในทางลบ (4.6 ± 8.5 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเป็นชุดการทดลองเดียวเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลอง

ที่ระดับแสงอื่นที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงของความยาวสูงสุดของซออยด์ลดลงในทางลบจากวงชีวิตที่หนึ่ง ไปสู่วงชีวิตที่สอง (รูปที่ 4-3)



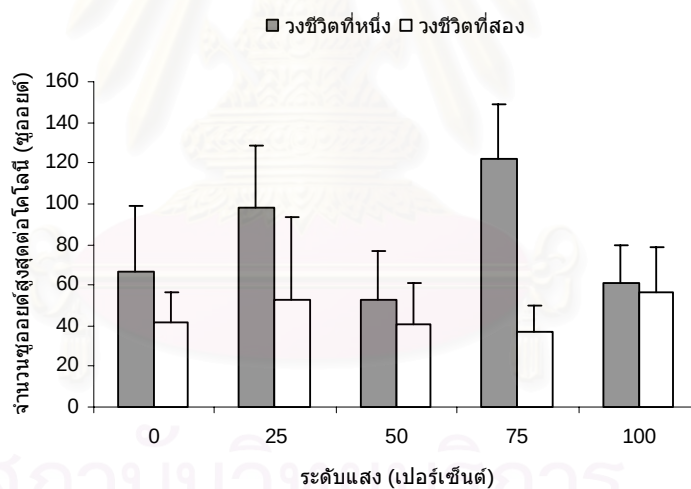
รูปที่ 4-3. อัตราการเปลี่ยนแปลงความยาวสูงสุดของซออยด์ต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

(4.1.2) ผลของแสงต่อจำนวนซออยด์

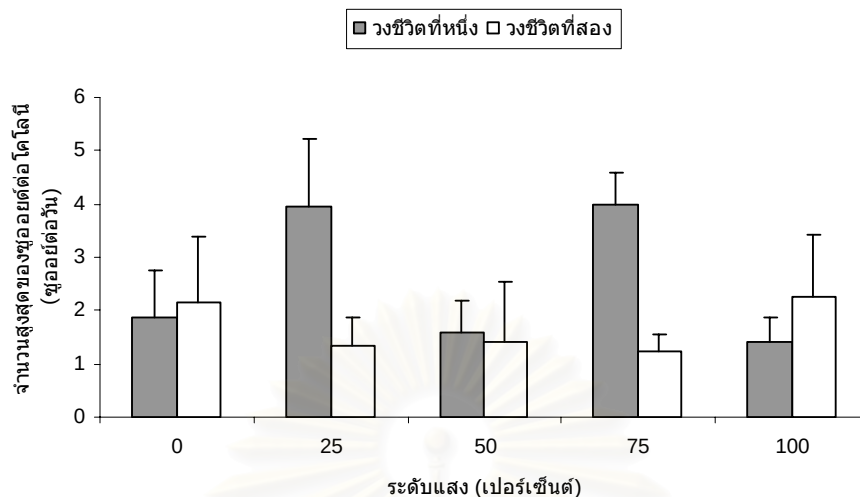
ในวงชีวิตที่หนึ่ง กลุ่มที่ได้รับแสงที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนซออยด์มากที่สุด (122 ± 27 ซออยด์) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับแสงในระดับอื่น ในขณะที่วงชีวิตที่สอง กลุ่มที่ได้รับแสงที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนซออยด์มากที่สุด (56 ± 23 ซออยด์) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับแสงในระดับอื่น (ตารางที่ 4-2 และ รูปที่ 4-4) ทั้งนี้ ช่วงอายุสั้นที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีจำนวนซออยด์มากที่สุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสองอยู่ที่ 25 ± 3 และ 32 ± 18 วัน ตามลำดับ ในกลุ่มที่ได้รับแสง 25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ช่วงอายุยาวที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีความยาวสูงสุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสองมีค่า 43 ± 3 และ 65 ± 17 วัน ในกลุ่มที่ได้รับแสง 100 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4-2) นอกจากนั้น เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของจำนวนซออยด์ต่อวัน พบว่า กลุ่มที่ได้รับแสง 75 เปอร์เซ็นต์ มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนซออยด์มากที่สุด (3.99 ± 0.6 ซออยด์ต่อวัน) ในวงชีวิตที่หนึ่ง แต่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนซออยด์ที่ต่ำที่สุดในวงชีวิตที่สอง (1.23 ± 0.3 ซออยด์ต่อวัน) ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับแสง 100 เปอร์เซ็นต์ มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนซออยด์ต่ำที่สุด (1.43 ± 0.4 ซออยด์ต่อวัน) ในวงชีวิตที่หนึ่ง แต่มีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงสุด (2.26 ± 1.2 ซออยด์ต่อวัน) ในวงชีวิตที่สอง (รูปที่ 4-5)

ตารางที่ 4-2. อายุของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* เปรียบเทียบกับจำนวนซุอยด์สูงสุดต่อโคโลนี
ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

ระดับแสง (เปอร์เซ็นต์)	วงชีวิตที่หนึ่ง		วงชีวิตที่สอง	
	จำนวนซุอยด์	อายุ (วัน)	จำนวนซุอยด์	อายุ (วัน)
	สูงสุด		สูงสุด	
0	67 ± 32	39 ± 6	42 ± 15	34 ± 12
25	98 ± 31	25 ± 3	53 ± 41	32 ± 18
50	53 ± 24	36 ± 5	41 ± 20	65 ± 17
75	122 ± 27	30 ± 4	37 ± 13	39 ± 18
100	61 ± 19	43 ± 3	56 ± 23	36 ± 11

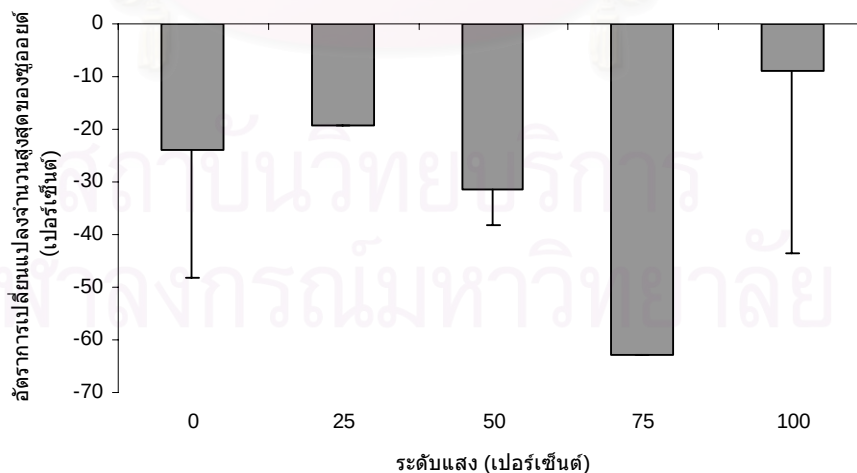


รูปที่ 4-4. จำนวนซุอยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิต
ที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



รูปที่ 4-5. การเพิ่มขึ้นต่อวันของจำนวนชูออยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงจำนวนชูออยด์สูงสุดจากวงชีวิตที่หนึ่ง ไปสู่วงชีวิตที่สองในการเลี้ยง พบว่า ทุกชุดการทดลองมีอัตราการเปลี่ยนแปลงที่ลดลง โดยกลุ่มที่ได้รับแสง 100 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงของจำนวนชูออยด์ในทางลบต่ำที่สุด (9.0 ± 34.6 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับแสง 75 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงในทางลบสูงที่สุดถึง 62.8 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4-6)



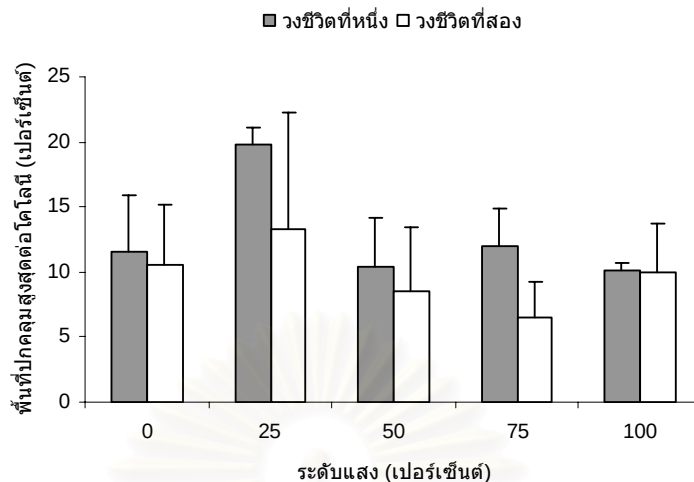
รูปที่ 4-6. อัตราการเปลี่ยนแปลงจำนวนชูออยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

(4.1.3) ผลของแสงต่อพื้นที่ปกคลุมของโคโลนี

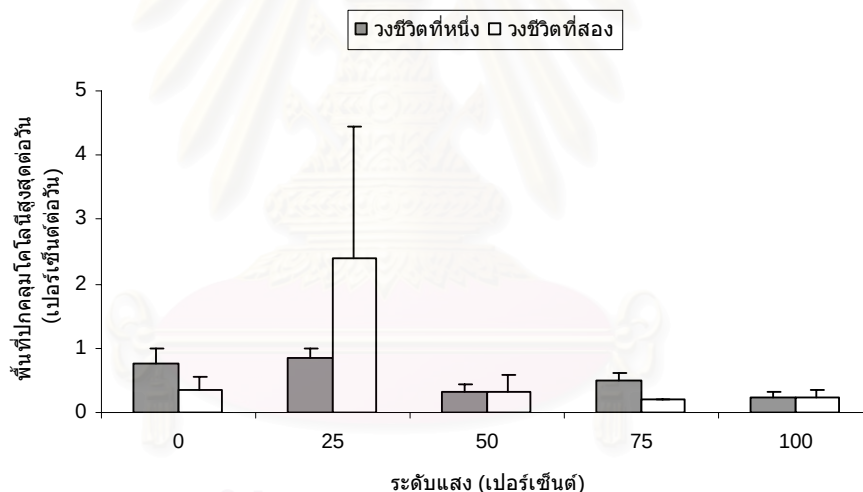
กลุ่มที่ได้รับแสงที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ มีพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงจรชีวิตที่หนึ่ง (19 ± 6.7 เปอร์เซ็นต์) และวงจรชีวิตที่สอง (13.4 ± 8.9 เปอร์เซ็นต์) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับแสงในระดับอื่น (ตารางที่ 4-3 และ รูปที่ 4-7) และชุดการทดลองที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ยังเป็นกลุ่มที่มีช่วงอายุสั้นที่สุดที่ให้พื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดทั้งในวงจรชีวิตที่หนึ่ง (21.2 ± 5.7 วัน) และวงจรชีวิตที่สอง (33.0 ± 32.0 วัน) ในขณะที่ช่วงอายุยาวที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงจรชีวิตที่หนึ่งและสองมีค่า 42.0 ± 3.2 และ 66.8 ± 17.5 วัน ในกลุ่มที่ได้รับแสง 100 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4-3) นอกจากนั้น เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีต่อวัน พบว่า กลุ่มที่ได้รับแสง 25 เปอร์เซ็นต์ มีการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงจรชีวิตที่หนึ่งและที่สอง (0.84 ± 0.6 และ 2.4 ± 2.1 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ) ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของพื้นที่ปกคลุมต่ำที่สุดในวงจรชีวิตที่หนึ่งและสอง ได้แก่ กลุ่มที่ได้รับแสง 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์ (0.24 ± 0.1 และ 0.19 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ) (รูปที่ 4-8)

ตารางที่ 4-3. อายุของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* เปรียบเทียบกับพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในแต่ละวงจรชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่ต่างกัน

ระดับแสง (เปอร์เซ็นต์)	วงจรชีวิตที่หนึ่ง		วงจรชีวิตที่สอง	
	พื้นที่ปกคลุมสูงสุด (เปอร์เซ็นต์)	อายุ (วัน)	พื้นที่ปกคลุมสูงสุด (เปอร์เซ็นต์)	อายุ (วัน)
0	11.5 ± 5.2	23.0 ± 8.3	10.5 ± 4.7	43.8 ± 11.9
25	19.7 ± 6.7	21.2 ± 5.7	13.4 ± 8.9	33.0 ± 32.0
50	10.5 ± 5.0	34.7 ± 7.3	8.6 ± 4.8	66.8 ± 17.5
75	12.1 ± 4.2	30.5 ± 8.7	6.5 ± 2.7	34.7 ± 15.6
100	10.1 ± 3.4	42.0 ± 3.2	9.9 ± 3.8	45.8 ± 7.4

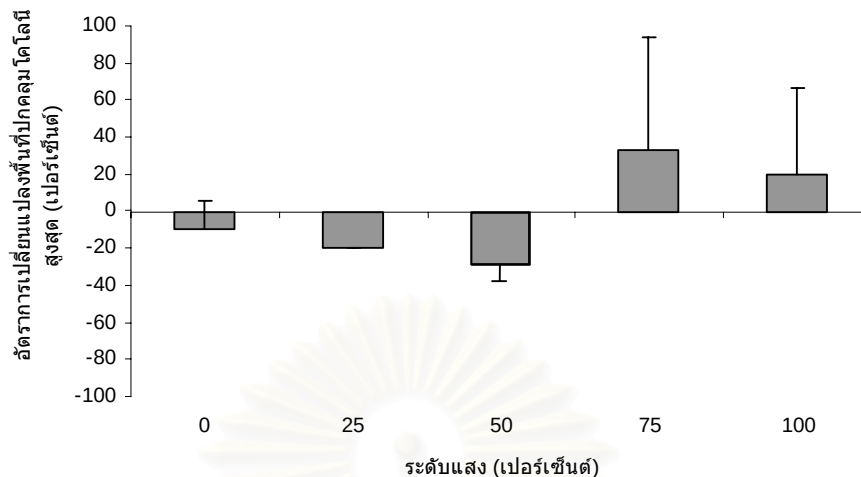


รูปที่ 4-7. พื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



รูปที่ 4-8. การเพิ่มขึ้นต่อวันของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดจากวงชีวิตที่หนึ่งไปสู่วงชีวิตที่สองในการเลี้ยง พบว่ากลุ่มที่ได้รับแสง 75 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ในทางบวกสูงสุด (33.3 ± 60.1 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับแสง 50 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงในทางลบสูงสุด (28.6 ± 8.1 เปอร์เซ็นต์) (รูปที่ 4-9)



รูปที่ 4-9. อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

(4.1.4) ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดการเติบโตของเพรียงหัวหอม

นอกจากนี้ เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการเติบโตของเพรียงหัวหอมในด้านต่างๆ คือ จำนวนชูออยด์ต่อโคโลนี ความยาวชูออยด์ และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอม พบว่า เมื่อโคโลนีเพรียงหัวหอมเพิ่มจำนวนมากขึ้น ความยาวชูออยด์จะเพิ่มขึ้น ($R=0.711$, $P<0.01$) และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอมเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ($R=0.934$, $P<0.01$)

(4.1.5) ผลการเปรียบเทียบการเติบโตของเพรียงหัวหอมในสองวงชีวิต

การเติบโตของความยาวชูออยด์ของเพรียงหัวหอม ไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้งสองวงชีวิต แต่จำนวนชูออยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอมในวงชีวิตที่สอง ลดลงอย่างมีนัยสำคัญจากวงชีวิตที่หนึ่ง อย่างไรก็ตามพื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอมในวงชีวิตที่หนึ่งและสองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4-4. ผลการเปรียบเทียบการเติบโตของเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับแสงที่แตกต่างกันในสองวงชีวิตทางสถิติ

	F	P
ความยาวชูออยด์	1.382	0.596
จำนวนชูออยด์ต่อโคโลนี	5.900	0.045
พื้นที่ปกคลุมโคโลนี	3.511	0.346

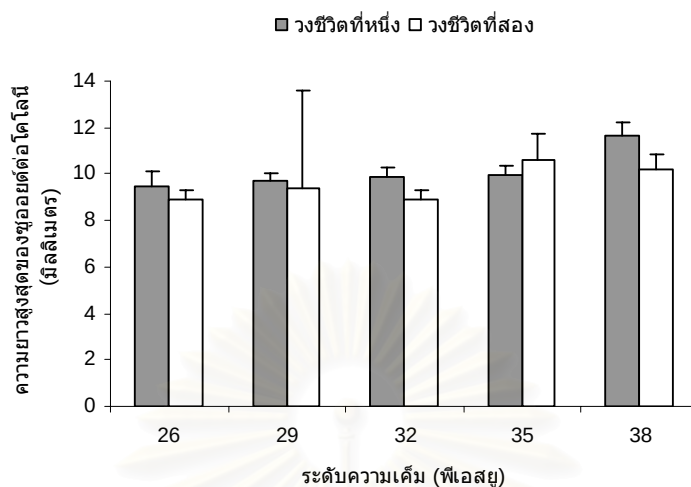
4.2 ผลของความเค็มต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

(4.2.1) ผลของความเค็มต่อการเติบโตของความยาวซุขอยด์

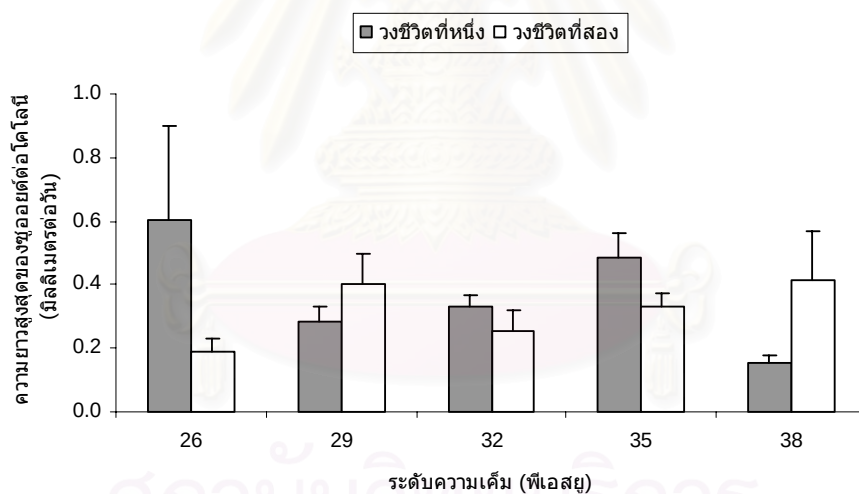
ในวงชีวิตที่หนึ่ง กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มที่ระดับ 38 พีเอสยู มีการเติบโตของความยาวสูงสุด (11.6 ± 0.6 มิลลิเมตร) กลุ่มอื่นมีการเติบโตเฉลี่ยระหว่าง 9.4 – 9.9 มิลลิเมตร ในขณะที่วงชีวิตที่สอง กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มระดับ 35 และ 38 พีเอสยู มีการเติบโตของความยาวสูงสุดไม่ต่างกัน (เฉลี่ยระหว่าง 10.2 – 10.6 มิลลิเมตร) ขณะที่กลุ่มอื่นมีการเติบโตเฉลี่ยระหว่าง 8.9 – 9.4 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4-4 และ รูปที่ 4-10) ทั้งนี้ ช่วงอายุสั้นที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีความยาวสูงสุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสองมีค่า 24.2 ± 5.0 และ 29.5 ± 13.5 วัน ในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 35 และ 38 พีเอสยู ตามลำดับ ในขณะที่ช่วงอายุยาวที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีความยาวสูงสุดในวงชีวิตที่หนึ่งและสองมีค่า 82.7 ± 14.7 และ 56.4 ± 10.4 วัน ในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 38 และ 26 พีเอสยู ตามลำดับ (ตารางที่ 4-4) และเมื่อเปรียบเทียบการเติบโตของความยาวสูงสุดของซุขอยด์ต่อวัน พบว่ากลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มต่ำที่สุด (26 พีเอสยู) ให้การเติบโตที่ต่ำที่สุดในวงชีวิตที่หนึ่ง (0.61 ± 0.3 มิลลิเมตรต่อวัน) แต่มีการเติบโตต่ำสุดในวงชีวิตที่สอง (0.19 มิลลิเมตรต่อวัน) ในทางตรงข้าม กลุ่มที่เลี้ยงด้วยความเค็มสูงสุด (38 พีเอสยู) ให้การเติบโตต่ำที่สุดในวงชีวิตที่หนึ่ง (0.16 ± 0.3 มิลลิเมตรต่อวัน) แต่มีการเติบโตสูงสุดในวงชีวิตที่สอง (0.42 ± 0.2 มิลลิเมตรต่อวัน) แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลองที่ระดับความเค็มต่างๆ (รูปที่ 4-11)

ตารางที่ 4-5. อายุของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* เปรียบเทียบกับความยาวสูงสุดของซุขอยด์ต่อโคโลนีในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

ระดับความเค็ม (พีเอสยู)	วงชีวิตที่หนึ่ง		วงชีวิตที่สอง	
	ความยาวสูงสุด (มิลลิเมตร)	อายุ (วัน)	ความยาวสูงสุด (มิลลิเมตร)	อายุ (วัน)
26	9.4 ± 0.6	37.8 ± 16.5	8.9 ± 0.8	56.4 ± 10.4
29	9.7 ± 0.4	45.3 ± 15.2	9.4 ± 0.4	35.8 ± 17.1
32	9.9 ± 0.4	31.5 ± 3.5	8.9 ± 1.7	45.2 ± 15.7
35	9.9 ± 0.4	24.2 ± 5.0	10.6 ± 0.9	35.8 ± 6.1
38	11.6 ± 0.6	82.7 ± 14.7	10.2 ± 1.1	29.5 ± 13.5

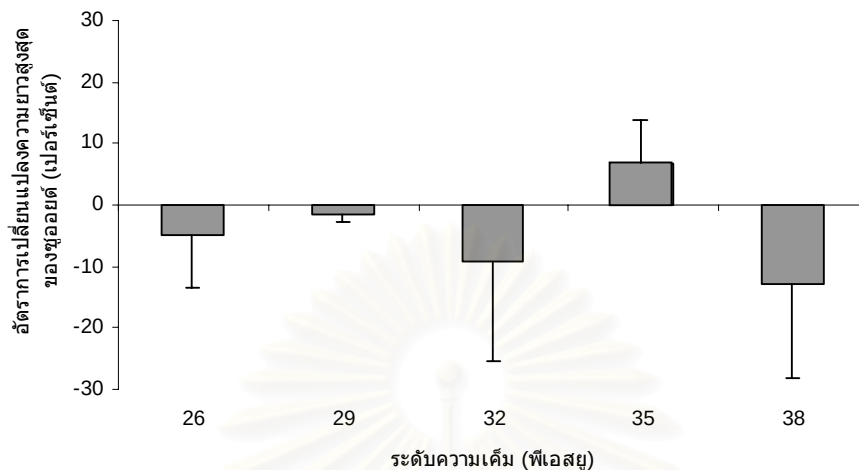


รูปที่ 4-10. ความยาวสูงสุดของซุออยด์ต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเต็มที่แตกต่างกัน



รูปที่ 4-11. การเติบโตต่อวันของซุออยด์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเต็มที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงความยาวสูงสุดของซุออยด์จากวงชีวิตที่หนึ่งไปสู่วงชีวิตที่สองในการเลี้ยง พบว่า เพรียงหัวหอมที่เลี้ยงด้วยระดับความเต็ม 35 พีเอสยู เป็นกลุ่มเดียวที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงในทางบวก (6.7 ± 6.3 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเต็ม 38 พีเอสยู มีอัตราการเปลี่ยนแปลงสูงสุดในทางลบ (12.9 ± 15.3 เปอร์เซ็นต์) (รูปที่ 4-12)



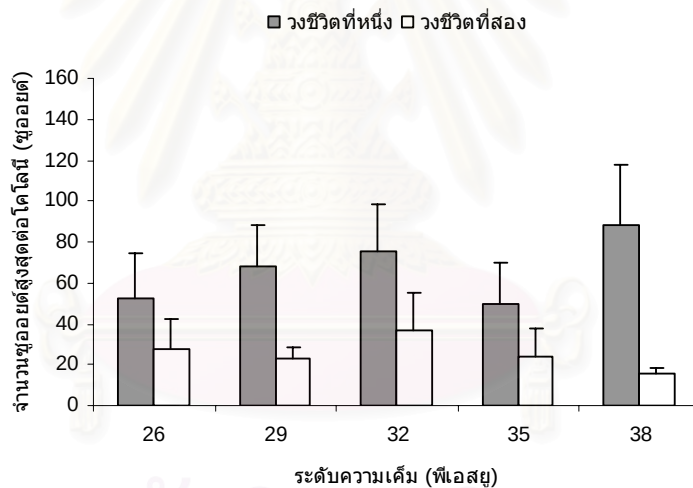
รูปที่ 4-12. อัตราการเปลี่ยนแปลงความยาวสูงสุดของซุออยด์ต่อ โคลโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ระหว่างสองวงจรชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

(4.2.2) ผลของความเค็มต่อจำนวนซุออยด์

ผลของความเค็มต่อจำนวนของซุออยด์เพรียงหัวหอม *E. thurstoni* พบว่า กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็ม 38 พีเอสยู มีจำนวนซุออยด์สูงสุดในวงจรชีวิตที่หนึ่ง (88 ± 29 ซุออยด์) แต่ มีจำนวนซุออยด์ต่ำสุดในวงจรชีวิตที่สอง (16 ± 3 ซุออยด์) ในขณะที่กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็ม 32 พีเอสยู มีจำนวนซุออยด์สูงสุดในวงจรชีวิตที่สอง (37 ± 19 ซุออยด์) (ตารางที่ 4-5 และ รูปที่ 4-13) แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลองที่ระดับความเค็มต่างๆ ทั้งนี้ ช่วงอายุสั้นที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีจำนวนซุออยด์มากที่สุดในวงจรชีวิตที่หนึ่งอยู่ที่กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็ม 29, 32 และ 35 พีเอสยู (23 – 24 วัน) ขณะที่ในวงจรชีวิตที่สองอยู่ที่กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็ม 38 พีเอสยู (22 วัน) (ตารางที่ 4-5) นอกจากนั้น เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของจำนวนซุออยด์ต่อวันพบว่า กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็ม 38 พีเอสยู มีจำนวนซุออยด์สูงสุดเพิ่มมากที่สุดทั้งในวงจรชีวิตที่หนึ่งและที่สอง (3.27 ± 1.3 และ 9.15 ± 8.8 ซุออยด์ต่อวัน ตามลำดับ) ในขณะที่กลุ่มที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนซุออยด์ต่ำที่สุดในวงจรชีวิตที่หนึ่งและสองอยู่ที่ 1.83 ± 0.8 และ 0.52 ซุออยด์ต่อวัน ในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็ม 26 และ 35 พีเอสยู ตามลำดับ (รูปที่ 4-14)

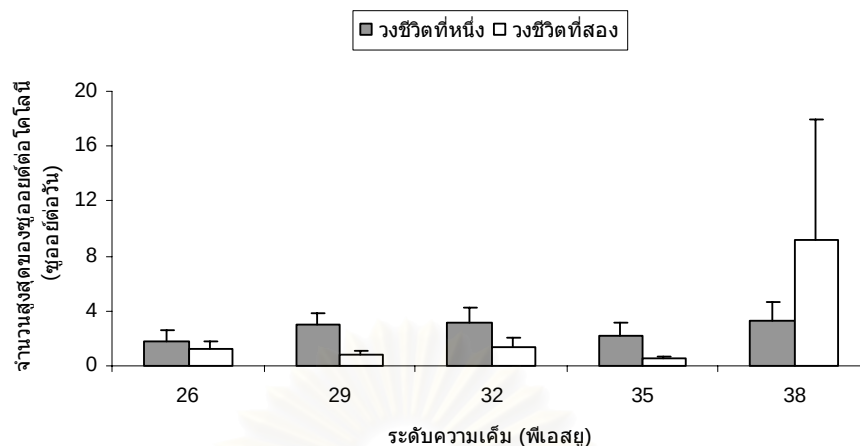
ตารางที่ 4-6. อายุของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* เปรียบเทียบกับจำนวนซุอยด์สูงสุดต่อโคโลนี
ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

ระดับความเค็ม (พีเอสยู)	วงชีวิตที่หนึ่ง		วงชีวิตที่สอง	
	จำนวนซุอยด์	อายุ (วัน)	จำนวนซุอยด์	อายุ (วัน)
	สูงสุด		สูงสุด	
26	53 ± 22	29 ± 3	27 ± 15	34 ± 14
29	68 ± 20	23 ± 0	23 ± 5	48 ± 17
32	75 ± 23	24 ± 1	37 ± 19	42 ± 20
35	49 ± 20	23 ± 1	24 ± 14	45 ± 12
38	88 ± 29	37 ± 8	16 ± 3	22 ± 21



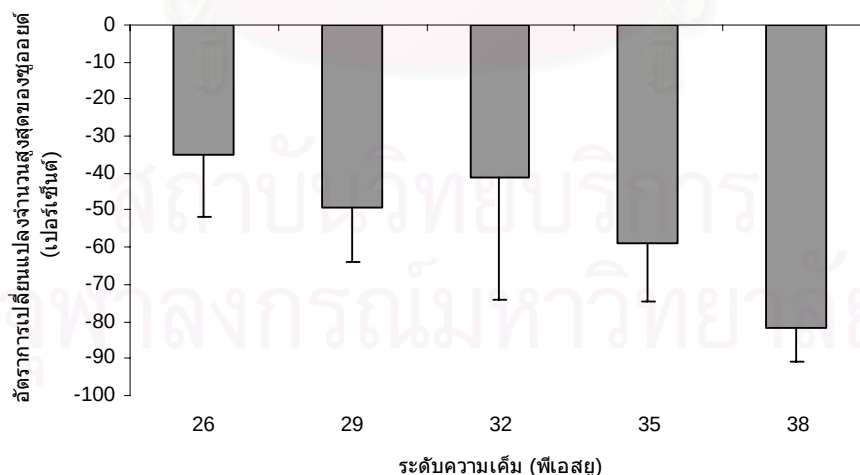
รูปที่ 4-13. จำนวนซุอยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน



รูปที่ 4-14. การเพิ่มขึ้นต่อวันของจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความแออัดที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงจำนวนซออยด์สูงสุดจากวงชีวิตที่หนึ่ง ไปสู่วงชีวิตที่สองในการเลี้ยง พบว่าทุกชุดการทดลองมีอัตราการเปลี่ยนแปลงลดลง เช่นเดียวกับที่พบในการเลี้ยงด้วยระดับแสงที่แตกต่างกัน โดยกลุ่มที่ได้เลี้ยงในระดับความแออัดสูงสุด (38 ฟองไข่) มีอัตราการเปลี่ยนแปลงจำนวนซออยด์ในทางลบมากที่สุด (81.5 ± 9.2 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กลุ่มที่เลี้ยงในระดับความแออัดต่ำสุด (26 ฟองไข่) มีอัตราการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด (35.1 ± 16.8 เปอร์เซ็นต์) (รูปที่ 4-15)



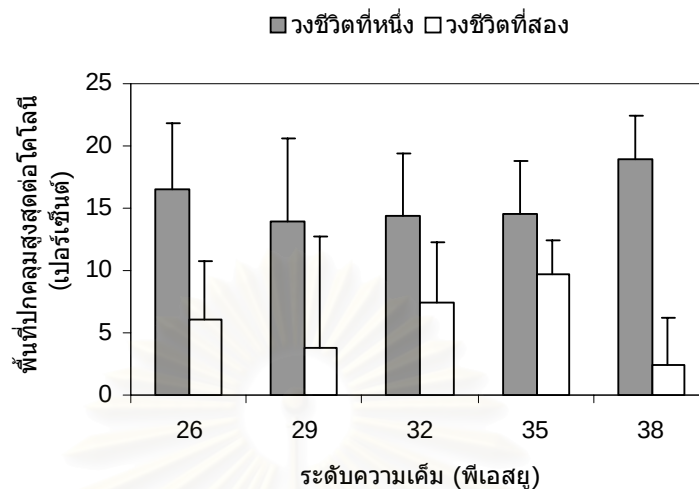
รูปที่ 4-15. อัตราการเปลี่ยนแปลงจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความแออัดที่แตกต่างกัน

(4.2.3) ผลของความเต็มต่อพื้นที่ปกคลุมของโคโลนี

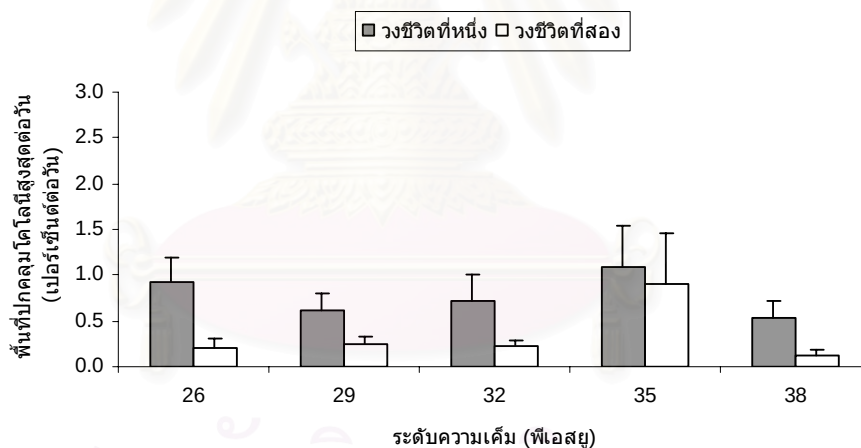
ผลของความเต็มต่อพื้นที่ปกคลุมโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* พบว่า กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเต็ม 38 ฟีเอสยู มีพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงจรชีวิตที่หนึ่ง (19.0 ± 6.2 เปอร์เซ็นต์) แต่ต่ำสุดในวงจรชีวิตที่สอง (2.4 ± 0.7 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเต็ม 35 ฟีเอสยู มีพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงจรชีวิตที่สอง (9.7 ± 2.8 เปอร์เซ็นต์) 4-13) แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลองที่ระดับความเต็มต่างๆ (ตารางที่ 4-6 และ รูปที่ 4-16) ทั้งนี้ ช่วงอายุสั้นที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงจรชีวิตที่หนึ่งและสอง อยู่ที่กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเต็ม 35 และ 29 ฟีเอสยู ตามลำดับ (19.0 ± 4.4 และ 14.5 ± 1.3 วัน) ในขณะที่ช่วงอายุยาวที่สุดที่เพรียงหัวหอมมีพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในวงจรชีวิตที่หนึ่งและสองอยู่ที่กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเต็ม 38 และ 32 ฟีเอสยู ตามลำดับ (44.2 ± 9.6 และ 37.6 ± 18.7 วัน) (ตารางที่ 4-6) นอกจากนั้น เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีต่อวัน พบว่ากลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเต็ม 35 ฟีเอสยู มีการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีต่อวันสูงที่สุดทั้งในวงจรชีวิตที่หนึ่งและที่สอง (1.10 ± 0.4 และ 0.90 ± 0.6 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ) ในขณะที่กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเต็ม 38 ฟีเอสยู มีการเพิ่มขึ้นต่อวันของพื้นที่ปกคลุมต่ำที่สุดในวงจรชีวิตที่หนึ่งและสองเท่ากับ 0.53 ± 0.2 และ 0.12 ± 0.1 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ (รูปที่ 4-17)

ตารางที่ 4-7. อายุของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* เปรียบเทียบกับพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดในแต่ละวงจรชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเต็มที่แตกต่างกัน

ระดับความเต็ม (फीएसयु)	วงจรชีวิตที่หนึ่ง		วงจรชีวิตที่สอง	
	พื้นที่ปกคลุมสูงสุด (เปอร์เซ็นต์)	อายุ (วัน)	พื้นที่ปกคลุมสูงสุด (เปอร์เซ็นต์)	อายุ (วัน)
26	16.5 ± 6.9	20.8 ± 5.9	6.0 ± 4.4	35.6 ± 14.8
29	14.0 ± 4.3	23.0 ± 0	3.8 ± 1.3	14.5 ± 1.3
32	14.4 ± 4.7	21.0 ± 1.3	7.4 ± 3.7	37.6 ± 18.7
35	14.6 ± 4.1	19.0 ± 4.4	9.7 ± 2.8	33.7 ± 13.3
38	19.0 ± 6.2	44.2 ± 9.6	2.4 ± 0.7	29.5 ± 13.5

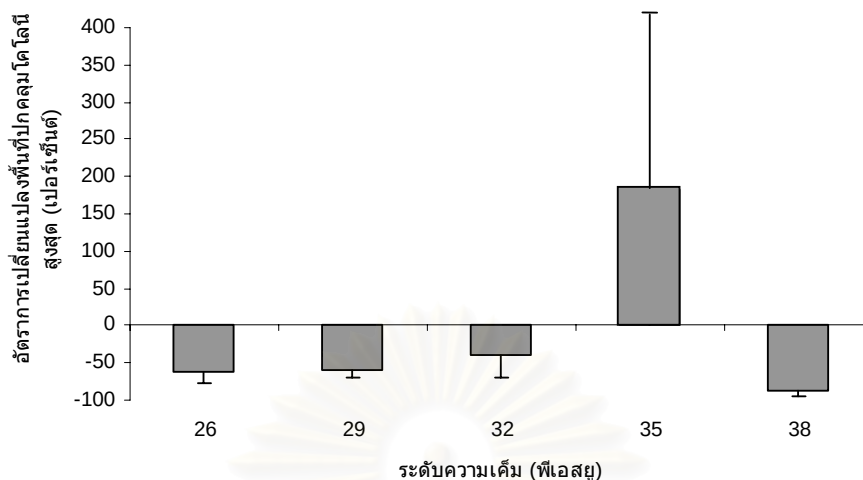


รูปที่ 4-16. พื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน



รูปที่ 4-17. การเพิ่มขึ้นต่อวันของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุด จากวงชีวิตที่หนึ่งไปสู่วงชีวิตที่สองในการเลี้ยง พบว่า กลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็ม 35 พีเอสยู เป็นเพียงกลุ่มเดียวที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ในทางบวก (183.87 ± 236.7 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่กลุ่มอื่นมีอัตราการเปลี่ยนแปลงลดลง โดยกลุ่มที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็ม 38 พีเอสยู มีอัตราการเปลี่ยนแปลงในทางลบสูงสุด (86.2 ± 7.9 เปอร์เซ็นต์) (รูปที่ 4-18)



รูปที่ 4-18. อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ระหว่างสองวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

(4.2.4) ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการวัดการเติบโตของเพรียงหัวหอม

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการเติบโตของเพรียงหัวหอมในด้านต่างๆ คือจำนวนชู่ออยด์ต่อโคโลนี ความยาวชู่ออยด์ และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอมพบว่า เมื่อโคโลนีเพรียงหัวหอมเพิ่มจำนวนมากขึ้น ความยาวชู่ออยด์เพิ่มมากขึ้น ($R=0.604$, $P<0.01$) และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอมเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ($R=0.916$, $P<0.01$)

(4.2.5) ผลการเปรียบเทียบการเติบโตของเพรียงหัวหอมในสองวงชีวิต

การเติบโตของความยาวชู่ออยด์ของเพรียงหัวหอม ไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้งสองวงชีวิต แต่จำนวนชู่ออยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอมในวงชีวิตที่สอง ลดลงอย่างมีนัยสำคัญจากวงชีวิตที่หนึ่ง นอกจากนี้พื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอมในวงชีวิตที่สองลดลงจากวงชีวิตที่หนึ่งอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4-8. ผลการเปรียบเทียบการเติบโตของเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็มที่แตกต่างกันในสองวงชีวิต

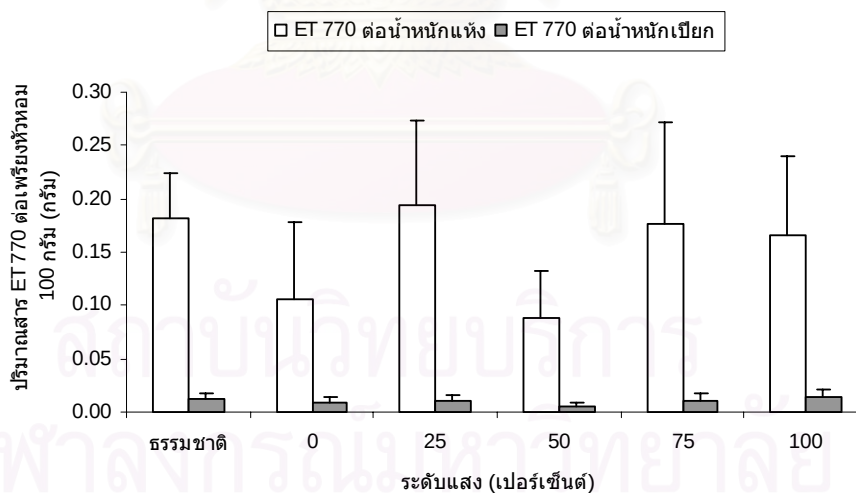
	F	P
ความยาวชู่ออยด์	2.903	0.303
จำนวนชู่ออยด์ต่อโคโลนี	7.668	0.001
พื้นที่ปกคลุมโคโลนี	5.419	0.002

4.3 ผลของแสงและความเค็มต่อการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

จากการนำเพรียงหัวหอมในธรรมชาติเมื่อเริ่มต้นทำการศึกษามาสกัดแยกสาร ET 770 พบว่าเพรียงหัวหอมสามารถผลิตสาร ET 770 ได้ในปริมาณ 0.182 ± 0.042 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเพรียงหัวหอม (หรือ 0.013 ± 0.004 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเปียกของเพรียงหัวหอม) โดยปริมาณสาร ET 770 ที่สกัดได้จากเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในธรรมชาติและจากการเลี้ยงแสงในรูปที่ 4-19 และ 4-20

(4.3.1) ผลของแสงต่อการผลิตสาร ET 770

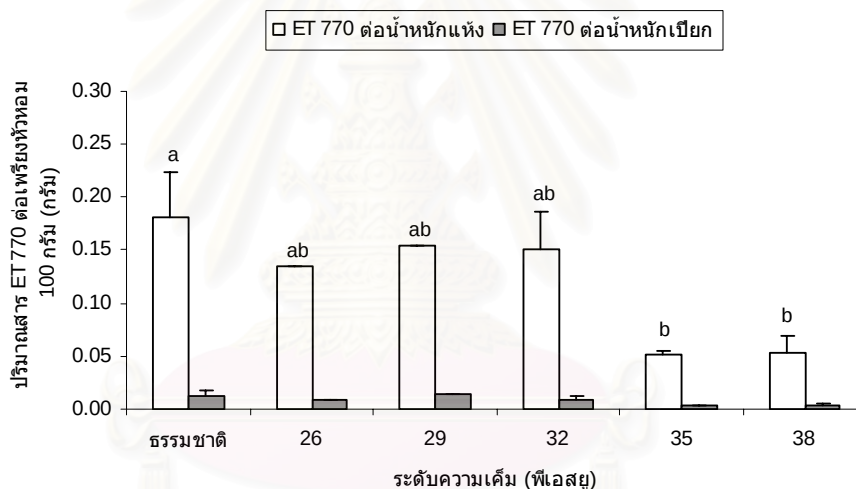
เพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับแสง 25, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณสาร ET 770 อยู่ในช่วง $0.193 - 0.167$ กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเพรียงหัวหอม (หรือ $0.011 - 0.013$ กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเปียกของเพรียงหัวหอม) เช่นเดียวกับปริมาณสาร ET 770 ที่สกัดได้จากเพรียงหัวหอมในธรรมชาติ ในขณะที่เพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับแสง 0 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณสาร ET 770 อยู่ในช่วง $0.089 - 0.107$ กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเพรียงหัวหอม (หรือ $0.006 - 0.009$ กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเปียกของเพรียงหัวหอม) อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ



รูปที่ 4-19. ปริมาณสาร ET 770 ที่สกัดได้จากเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในธรรมชาติและจากการเลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกันในสองรอบวงชีวิต

(4.3.2) ผลของความเค็มต่อการผลิตสาร ET 770

เฟรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่ำที่ 26, 29 และ 32 พีเอสยู ให้ปริมาณสาร ET 770 ในระดับสูงเท่ากับ 0.155 – 0.135 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเฟรียงหัวหอม (หรือ 0.009 – 0.014 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเปียกของเฟรียงหัวหอม) ซึ่งใกล้เคียงกับที่เฟรียงหัวหอมในธรรมชาติผลิต และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่กลุ่มที่เลี้ยงในระดับความเค็มสูง 35 และ 38 พีเอสยู สามารถผลิตสาร ET 770 ในระดับต่ำเท่ากับ 0.052 – 0.054 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้งของเฟรียงหัวหอม (หรือ 0.003 – 0.004 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักเปียกของเฟรียงหัวหอม) ซึ่งน้อยกว่าเฟรียงหัวหอมในธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์



รูปที่ 4-20. ปริมาณสาร ET 770 ที่สกัดได้จากเฟรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในธรรมชาติและจากการเลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกันในสองรอบวงชีวิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

วิจารณ์ สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ

วิจารณ์ผลการศึกษา

5.1 ผลของแสงต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

การเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ทั้งในส่วนของความยาวสูงสุดของซออยด์ต่อโคโลนี จำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนี และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุด ในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม การเติบโตต่อวันของความยาวของซออยด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับแสงที่เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่เพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับแสงปกติ (100 เปอร์เซ็นต์) มีการเติบโตต่อวันของความยาวของซออยด์ต่ำที่สุดทั้งสองวงชีวิต ทั้งนี้ ความยาวสูงสุดของเพรียงหัวหอมทุกชุดการทดลอง มีค่าใกล้เคียงกับเพรียงหัวหอมที่เติบโตในสภาพธรรมชาติ ซึ่งมีช่วงความยาวระหว่าง 8 – 12 มิลลิเมตร (Chavanich *et al.*, 2005) เพรียงหัวหอมในชุดการทดลองระดับแสง 25 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นต่อวันของจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีสูงกว่าในกลุ่มของระดับแสง 0, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และเพรียงหัวหอมที่ระดับแสง 25 เปอร์เซ็นต์ มีพื้นที่ปกคลุมสูงสุดและการเพิ่มขึ้นต่อวันสูงที่สุด ดังนั้นเพรียงหัวหอมระดับแสง 25 และ 75 เปอร์เซ็นต์ จึงมีแนวโน้มการเติบโตของเพรียงหัวหอมสูงกว่าระดับแสงอื่นๆ

อายุเฉลี่ยของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ทุกระดับแสงที่มีความยาวสูงสุดของซออยด์ จำนวนซออยด์ และพื้นที่ปกคลุมโคโลนีอยู่ในช่วง 21 – 55 วัน และมีระยะเวลาวงชีวิตเฉลี่ยประมาณ 70 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับเพรียงหัวหอมในสภาพธรรมชาติซึ่งมีช่วงอายุ 60 วัน (ปิยะ โกยสิน, 2548; Chavanich *et al.*, 2005) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Mendola (2003) ที่พบว่าการเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. turbinata* ที่ทำการเลี้ยงในทะเลซึ่งมีระยะเวลาโดยเฉลี่ยเท่ากับ 45 – 90 วัน ใกล้เคียงกับระยะเวลาการเลี้ยงโดยเฉลี่ยในระบบเลี้ยงบนบก (35 – 45 วัน) นอกจากนี้ยังพบว่า เพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงนั้น มีระยะห่างระหว่างวงชีวิตสั้นกว่าเพรียงหัวหอมในธรรมชาติ โดยเพรียงหัวหอมในธรรมชาติมีความชุกชุมสูงเพียง 3 เดือนต่อปี (Chavanich *et al.*, 2005) จึงทำให้เป็นประโยชน์ในการเก็บเกี่ยวเพรียงหัวหอมในระบบเลี้ยง นั่นคือสามารถเก็บเกี่ยวเพรียงหัวหอมได้เป็นจำนวนครั้งที่มากขึ้นในรอบปี นอกจากนี้เพรียงหัวหอมยังสามารถสร้างซออยด์ใหม่มาทดแทนได้เร็วอีกด้วย

5.2 ผลของความเค็มต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ปัจจัยความเค็มสามารถส่งผลต่อตัวอ่อนและระยะวัยรุ่นของเพรียงหัวหอม ในระหว่างการลงเกาะของเพรียงหัวหอมและการ metamorphosis จากการศึกษาของ Vazquez and Young (2000) พบว่าที่ความเค็มต่ำ เพรียงหัวหอม *Eudistoma olivaceum* และ *Eudistoma hepaticum* สามารถลงเกาะได้ช้า ในขณะที่ *Ecteinascidia turbinata* สามารถลงเกาะได้เร็ว แต่ไม่สามารถ metamorphosis ได้ ส่วนกระบวนการ metamorphosis นั้น *Eudistoma olivaceum* สามารถ metamorphosis ได้ที่ความเค็ม 26 พีเอสยู และ *Eudistoma hepaticum* สามารถ metamorphosis ได้ที่ความเค็ม 24 พีเอสยู และ *Ecteinascidia turbinata* สามารถ metamorphosis ได้สำเร็จที่ความเค็ม 22 พีเอสยู แต่หากความเค็มต่ำกว่า 22 พีเอสยู ตัวอ่อนเพรียงหัวหอมทั้งสามชนิดมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ (Vazquez and Young, 2000) นอกจากนี้เพรียงหัวหอมสามารถเติบโตและรุกเข้าไปในบริเวณเอสทูร์รี่ซึ่งมีปริมาณและการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารสูง (Locke et al, 2007) เช่นเดียวกัน เพรียงหัวหอม *E. turbinata* ที่สามารถอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มสูง (Vazquez and Young, 2000)

ในทำนองเดียวกันกับปัจจัยแสงจากการทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชุดการทดลองในระดับความเค็มต่างๆ อย่างไรก็ตาม ในวงจรชีวิตที่หนึ่งเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 26 พีเอสยู มีแนวโน้มที่มีความยาวสูงสุดของซออยด์สูงที่สุด ในขณะที่วงจรชีวิตที่สองเพรียงหัวหอมมีแนวโน้มที่มีความยาวสูงสุดของซออยด์ต่ำที่สุด ซึ่งผกผันกับเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 38 พีเอสยู ในวงจรชีวิตที่หนึ่งมีแนวโน้มของความยาวสูงสุดของซออยด์ต่ำที่สุด ส่วนในวงจรชีวิตที่สองเพรียงหัวหอมมีแนวโน้มที่มีความยาวสูงสุดของซออยด์สูงที่สุด ส่วนจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับความเค็มที่เพิ่มมากขึ้น ยกเว้นที่ระดับความเค็ม 35 พีเอสยู โดยในวงจรชีวิตที่หนึ่งและสองเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 38 พีเอสยู มีการเพิ่มขึ้นต่อวันของจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองอื่น ในทางตรงกันข้าม อัตราการเปลี่ยนแปลงจำนวนซออยด์สูงสุดต่อโคโลนีระหว่างสองวงจรชีวิตมีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงไปในทางลบมากขึ้นเมื่อระดับความเค็มเพิ่มมากขึ้น

ในวงจรชีวิตที่หนึ่งและสอง การเพิ่มขึ้นต่อวันของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุดของเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 38 พีเอสยู มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับระดับความเค็มอื่น ทั้งนี้ ในวงจรชีวิตที่สองการเพิ่มขึ้นต่อวันของพื้นที่ปกคลุมโคโลนีสูงสุด มีแนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับวงจรชีวิตที่หนึ่งของทุกชุดการทดลอง อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมพบว่า อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อโคโลนีของกลุ่มที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 35 พีเอสยู มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงไปในทางบวกเพียงกลุ่มเดียว ในขณะที่กลุ่มอื่นมีการเปลี่ยนแปลงของ

พื้นที่ปกคลุมสูงสุดต่อโกลีตลดลงจากวงจรชีวิตที่หนึ่ง ดังนั้นเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็มสูง (35 และ 38 พีเอสยู) จึงมีแนวโน้มการเติบโตของเพรียงหัวหอมสูงกว่าระดับอื่นๆ

5.3 ผลของแสงและความเค็มต่อการผลิตสาร Ectenascidins ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

เพรียงหัวหอม *E. thurstoni* สามารถผลิตสาร Ectenascidins ได้สองชนิดคือ ET 770 และ ET 786 (นกรณพ บุญถนอม และ ปิติ จันทรรพโชค, 2544; Charupant, 2000; Suwanborirux *et al.*, 2002) ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร Ectenascidins ของการศึกษาครั้งนี้ ปริมาณสาร ET 786 ที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้สามารถวิเคราะห์สาร ET 770 ได้ในปริมาณสูง สำหรับเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในธรรมชาติ นกรณพ บุญถนอม และ ปิติ จันทรรพโชค (2544) สามารถสกัดแยกสาร ET 770 เมื่อเทียบกับน้ำหนักเปียกเพรียงหัวหอมได้สูงในเดือนสิงหาคม ($2.72 \times 10^{-3} \%$) ในขณะที่เดือนเมษายนเพรียงหัวหอมผลิตสาร ET 770 ได้น้อยที่สุดเท่ากับ ($0.88 \times 10^{-3} \%$) แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในหัวข้อ 4.3.1 ผลผลิตสาร ET 770 จากเพรียงหัวหอมในระบบเลี้ยงนั้น จากการทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกชุดการทดลอง

ปริมาณผลผลิตสาร ET 770 ที่ได้จากเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่างๆ ไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อแบ่งกลุ่มของเพรียงหัวหอมตามปริมาณการผลิตสาร ET 770 ออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่ำ (26, 29 และ 32 พีเอสยู) และ กลุ่มที่เลี้ยงในระดับความเค็มสูง (35 และ 38 พีเอสยู) จะพบความแตกต่างของความสามารถในการ ผลิตสาร ET 770 โดยเพรียงหัวหอมในกลุ่มแรกสามารถผลิตสาร ET 770 ได้ปริมาณสูง และ ใกล้เคียงกับที่เพรียงหัวหอมในธรรมชาติผลิต และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ส่วนเพรียงหัวหอมที่ เลี้ยงในระดับความเค็มสูง (35 และ 38 พีเอสยู) สามารถผลิตสาร ET 770 ได้ปริมาณน้อยกว่าเพรียง หัวหอมในธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้เมื่อพิจารณา ผลผลิตเพรียงหัวหอม (น้ำหนักแห้ง) และผลผลิตสาร ET 770 ที่ได้ จากการเลี้ยงในระดับแสงต่างๆ (ภาคผนวก ข-1 และ ข-2) พบว่า เพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับแสง 25 เปอร์เซ็นต์ มีผลผลิตเพรียงหัวหอมน้อยแต่สามารถให้สาร ET 770 ได้ปริมาณสูงที่สุด ส่วน เพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่างๆ นั้น พบว่า กลุ่มที่ได้รับความเค็มสูง (35 และ 38 พีเอส ยู) มีผลผลิตเพรียงหัวหอมสูง แต่สามารถผลิตสาร ET 770 ได้ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับความเค็มต่ำ (26 29 และ 32 พีเอสยู) ในทางตรงกันข้าม กลุ่มที่ได้รับความเค็มต่ำนี้จะมีผลผลิตเพรียงหัวหอม น้อยแต่สามารถผลิตสาร ET 770 ได้ในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มเพรียงหัวหอม

ที่ได้รับความเค็มต่ำ (26 29 และ 32 พีเอสยู) พบว่าเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 32 พีเอสยู สามารถผลิตสาร ET 770 ได้สูงที่สุด (ภาคผนวก ข-3 และ ข-4)

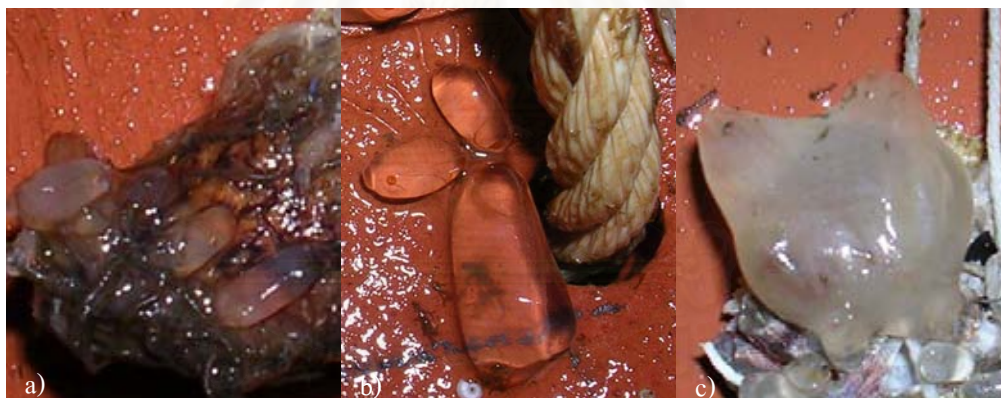
เพรียงหัวหอมจากการศึกษาครั้งนี้สามารถเติบโตและผลิตสาร ET 770 ได้ปริมาณใกล้เคียงกับเพรียงหัวหอมในธรรมชาติ รวมทั้งใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับการทดลองของ Carballo *et al* (2000) ที่นำชิ้นส่วนโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. turbinata* ที่แยกออกมาจากโคโลนีและเกาะติดบนเชือกและพลาสติก เพรียงหัวหอมสามารถเติบโตได้และสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้เช่นกัน นอกจากนี้การทดลองของ Duckworth and Battershill (2003) พบว่าฟองน้ำ *Latrunculia wellintonensis* และ *Polymastia croceus* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสามารถผลิตสารได้ปริมาณใกล้เคียงหรือมากกว่าที่ฟองน้ำในธรรมชาติผลิต

เพรียงหัวหอมสามารถเติบโตได้ทุกชุดการทดลองในระดับแสงและระดับความเค็ม โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อาจเนื่องมาจากว่า เพรียงหัวหอมมีลักษณะเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิด fouling organism ซึ่งสามารถเติบโตได้ดีในสภาวะแวดล้อมต่างๆ หรือสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความเค็ม และมลภาวะได้ในช่วงกว้าง ทั้งเพรียงหัวหอมที่เป็นแบบตัวเดี่ยวหรือเพรียงหัวหอมที่อาศัยอยู่รวมกันเป็นโคโลนี (Lambert, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่า เพรียงหัวหอมบางชนิดมีแนวโน้มที่จะแพร่กระจายไปยังที่อื่นๆ ได้จึงสามารถกลายเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดพันธุ์ต่างถิ่น (invasive species) ที่ก่อความเสียหายให้กับระบบนิเวศที่ถูกรุกราน ยกตัวอย่างเช่น เพรียงหัวหอมใน Family Perophoridae สามารถทนความเค็ม และอุณหภูมิได้กว้าง สามารถเลือกลงเกาะได้บนพื้นผิวหลากหลาย ทั้งที่เป็นพื้นผิวที่ไม่มีชีวิต และพื้นผิวที่เป็นสิ่งมีชีวิต (Goodbody, 2004) หรือเพรียงหัวหอม *Didemnum sp.* ซึ่งทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้หลากหลาย มีการเลือกลงเกาะบนพื้นผิวแข็ง สามารถเติบโตได้อย่างรวดเร็ว สามารถทนความอุณหภูมิได้เป็นช่วงกว้าง รวมทั้งมีผู้ล่าน้อย (Lambert, 2007, Gittenberger, 2007, Valentine *et al*, 2007, Bullard *et al*, 2007) ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* สามารถเติบโตโดยเกาะติดอยู่บนเพรียงหัวหอมตัวเดี่ยวชนิดอื่นที่ขึ้นมาในระหว่างการเลี้ยง (รูปที่ 5-1a) รวมทั้งเกาะติดบนแผ่นกระเบื้องที่ใช้ทำการศึกษาได้ (รูปที่ 5-1b)

จำนวนซุออกซ์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอมในวงชีวิตที่สองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับรอบวงชีวิตที่หนึ่ง อาจเนื่องมาจากว่าภายในระยะเวลาที่กำหนดให้ เพรียงหัวหอมบางโคโลนีมีวงชีวิตนานกว่าโคโลนีอื่น จึงไม่ปรากฏว่ามีวงชีวิตที่สอง ทำให้จำนวนซุออกซ์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอมลดลงจากวงชีวิตที่หนึ่งในทุกชุดการทดลอง และอาจเนื่องมาจากเพรียงหัวหอมที่นำมาใช้ในการทดลอง เป็นเพรียงหัวหอมที่เกาะติดอยู่กับเพรียงหินเป็นส่วนใหญ่และมี fouling organism อื่นๆ เช่น เพรียงหัวหอมชนิดอื่น โดยเฉพาะเพรียงหัวหอมที่ดำรงชีพเป็นตัวเดี่ยว (solitary tunicate) หรือฟองน้ำ เกาะติดมาด้วย ดังนั้นเมื่อเลี้ยงไปสักระยะหนึ่งเกิดการตายของ

เพรียงหินหรือ fouling organism อื่นๆ ที่ติดอยู่บนเพรียงหินทำให้พื้นผิวเปลี่ยนแปลงสภาพ จึงส่งผลต่อการเติบโตของโคโลนีเพรียงหัวหอมในรอบวงชีวิตที่สอง จากการศึกษาของ Duckworth *et al.* (2004) การเพาะเลี้ยงโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. turbinata* โดยนำเพรียงหัวหอมที่ปราศจากพื้นผิว หรือสิ่งเกาะติดอื่นมาเลี้ยงโดยให้เกาะกับตาข่ายไนลอน พบว่าโคโลนีเพรียงหัวหอมสามารถเติบโตและเกาะติดกับ พื้นผิว ที่กำหนดให้ได้ดีกว่า

การเติบโตในรอบวงชีวิตที่สองของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* นั้นมีเพรียงหัวหอมตัวเดี่ยวชนิดอื่นที่ขึ้นมาและสามารถแย่งพื้นที่การเติบโตของ *E. thurstoni* ได้ดีกว่า (รูปที่ 5-1c) รวมทั้งมีการแย่งกรงกินอาหารที่ให้แก่ *E. thurstoni* จึงทำให้ *E. thurstoni* บางโคโลนีอาจได้รับอาหารไม่เพียงพอ จึงอาจส่งผลต่อการเติบโตทำให้ผลผลิตเพรียงหัวหอมต่ำ โดยเฉพาะในระบบเลี้ยงบนบก (Mendola, 2003) นอกจากนี้ Carballo *et al.* (2000) พบว่าเพรียงหัวหอม *E. turbinata* มีอัตราการเติบโตสัมพันธ์ในโคโลนีขนาดเล็กมากกว่าโคโลนีขนาดใหญ่

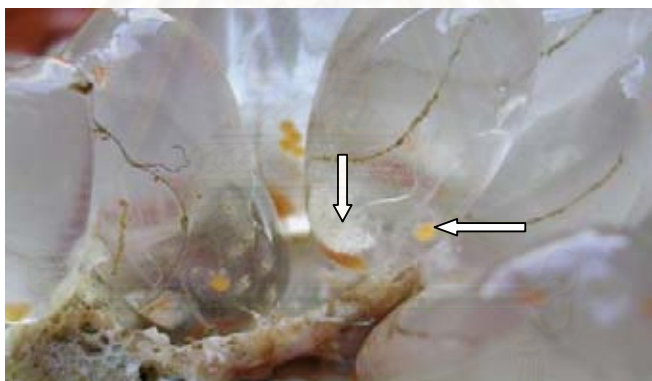


รูปที่ 5-1. เพรียงหัวหอมตัวเดี่ยวบนพื้นผิวเดียวกับ *E. thurstoni*

- a) เพรียงหัวหอม *E. thurstoni* เติบโตโดยเกาะติดบนเพรียงหัวหอมแบบตัวเดี่ยวชนิดอื่น
- b) เพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่สามารถเกาะติดบนแผ่นกระเบื้องที่ใช้ในการศึกษา
- c) เพรียงหัวหอมตัวเดี่ยวชนิดอื่นที่เติบโตบนพื้นผิวเดียวกับเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

นอกจากนี้อาหารที่ใช้ในการศึกษาคือ *Chaetoceros* sp. อาจมีคุณค่าทางโภชนาการไม่เพียงพอต่อการเติบโตและการผลิตสาร ET 770 จากการศึกษาของ Duckworth *et al* (2004) พบว่าอาหารเลี้ยงเพรียงหัวหอม *E. turbinata* ที่เป็นแหล่งคาร์บอนพืชต่างชนิดกันทำให้เพรียงหัวหอมมีการเติบโตต่างกัันนั้น เพรียงหัวหอมที่เลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนพืช *Chaetoceros gracilis* ร่วมกับ *Isocrysis galbana* มีการเติบโตสูงที่สุดและมีจำนวนซุออกไซด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอมมากที่สุดเมื่อเพิ่มระดับความหนาแน่นของอาหารให้มากขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการผลิตสาร ET อย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากเพรียงหัวหอมสามารถเติบโตได้ดีในทุกระดับแสงและความเค็ม และสามารถสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อภายในถังเลี้ยงแล้ว ยังพบว่าเพรียงหัวหอมสามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ ซึ่งสามารถเห็นไข่และถุงน้ำเชื้อภายในซุออกไซด์ได้อย่างชัดเจนดังแสดงในรูปที่ 5-2 แต่จากระยะเวลาการเลี้ยงทั้งหมดไม่พบตัวอ่อนที่สามารถลงเกาะและเติบโตได้ในถังเลี้ยง จากการศึกษาของ Mendola (2003) พบว่าเพรียงหัวหอม *E. turbinata* ในระบบเลี้ยงบนบก สามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้เช่นกัน แต่จะใช้เวลานานกว่าเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในทะเล



รูปที่ 5-2. เซลล์สืบพันธุ์ของเพรียงหัวหอมที่สร้างขึ้นในระหว่างการทดลองเลี้ยง

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาพบว่าระดับแสงที่กำหนดให้ไม่มีผลต่อการเติบโตและการผลิตสาร ET 770 ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* แต่เพรียงหอยมีแนวโน้มที่จะเติบโตได้ดีที่ระดับแสง 25 และ 75 เปอร์เซ็นต์ และผลิตสาร ET 770 ได้สูงที่สุดที่ระดับแสง 25, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเพรียงหัวหอมที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่างกันั้น พบว่าระดับความเค็มที่กำหนดให้ไม่มีผลต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม แต่เพรียงหัวหอมมีแนวโน้มเติบโตได้ดีที่ระดับความเค็มสูง 35 และ 38 พีเอสยู อย่างไรก็ตามระดับความเค็มที่กำหนดให้ไม่มีผลต่อการผลิตสาร ET 770 ของเพรียงหัวหอม โดยเพรียงหัวหอมสามารถผลิตสาร ET 770 ได้สูงในช่วงความเค็มต่ำ (26, 29 และ 32 พีเอสยู) ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณสาร ET 770 ที่เพรียงหัวหอมผลิตได้ในธรรมชาติ จึงทำให้มีความเป็นไปได้สูงที่จะนำเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* มาพัฒนาการเลี้ยงในระบบเลี้ยงเพื่อผลิตสาร ET 770 โดยข้อดีของการเลี้ยงในระบบเลี้ยงคือสามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้มากกว่าในทะเล รวมทั้งลดต้นทุนที่ต้องใช้สำหรับในการลงทะเล นอกจากนี้ จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า เพรียงหัวหอมในระบบเลี้ยงมีงชีวิตที่สั้นกว่าในทะเล และใช้เวลาประมาณ 1 เดือน ในการที่จะเติบโตขึ้นมาใหม่ในวงชีวิตต่อไป ในขณะที่ในทะเลจะใช้เวลาประมาณ 3 เดือน ในการที่ช่อยอดจะเติบโตขึ้นมาใหม่ในวงชีวิตต่อไป

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาภายในระบบเลี้ยงบนบก ซึ่งมีข้อจำกัดในปัจจัยด้านอาหาร จึงควรศึกษาเพิ่มเติมด้านอาหารต่อการเติบโตและการผลิตสาร ET 770 นอกจากนี้การเก็บตัวอย่างเพรียงหัวหอมมาศึกษาควรเก็บเฉพาะส่วนที่เป็นโคลินที่ไม่มีพื้นผิวยึดเกาะอยู่ จะช่วยลดความเสียหายที่เกิดกับโคลินเพรียงหัวหอม เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นผิวที่เพรียงหัวหอมใช้ยึดเกาะ และยังช่วยลดการแก่งแย่งพื้นที่เติบโตจาก fouling organism อื่นๆ ได้ ซึ่งในเพรียงหัวหอมและ fouling organism หลายชนิดสามารถเติบโตได้ดีบนพื้นผิวที่เป็นวัตถุที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น แผ่นอูมิเนียม Styrofoam PVC หรือยาง ได้ดีกว่าพื้นผิวในธรรมชาติ เช่น เปลือกหอย หิน หรือไม้ (Tyrrell and Byers, 2007, Locke *et al*, 2007)

นอกเหนือจากการควบคุมดูแลภาวะแวดล้อมในระบบเลี้ยง และปัจจัยสำคัญที่จะส่งผลต่อการเติบโตและการผลิตสาร ET 770 ของเพรียงหัวหอมแล้ว การศึกษาเพิ่มเติมโดยนำปัจจัยแสงและความเค็มที่เพรียงหัวหอมสามารถเติบโตได้ดี และมีผลผลิตสาร ET 770 สูงมาทดลองเลี้ยงเพรียงหัวหอมร่วมกัน หรืออาจจะนำเพรียงหัวหอมมาทดลองให้ระดับแสงและระดับความเค็มที่

เพรียงหัวหอมมีการเติบโตดีมาตลอดเลี้ยง จนกระทั่งเมื่อเพรียงหัวหอมมีการเติบโตสูงสุดจึง กระตุ้นการผลิตสาร ET 770 โดยเปลี่ยนระดับแสงและระดับความเค็มที่เพรียงหัวหอมสามารถผลิต สาร ET 770 ได้ปริมาณสูง และควรศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมเพื่อการ ผลิตสาร ET 770 รวมทั้งขั้นตอนการเก็บเกี่ยวเพรียงหัวหอมซึ่งสามารถทำได้ทั้งการเก็บเกี่ยวเพรียง หัวหอมครั้งเดียว หรือเก็บเป็นช่วงเวลา จากการศึกษาของ Duckworth and Battershill (2003) ซึ่ง เก็บเกี่ยวฟองน้ำในระบบเลี้ยงโดยแบ่งเก็บฟองน้ำบางส่วน พบว่าฟองน้ำสามารถเติบโตได้ใกล้เคียง หรือดีกว่าฟองน้ำที่ไม่ผ่านการเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นกลไกในการเพิ่มอัตราการรอดโดยการเพิ่มมวลชีวภาพ ของฟองน้ำเพื่อต้านทานสภาวะ เช่น การถูกผู้ล่ากิน เชื้อโรค หรือความเสียหายที่เกิดจากพยาธิได้ และการเก็บฟองน้ำเป็นบางส่วนซ้ำไม่ทำให้ฟองน้ำตายมากขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้การศึกษาค้างนี้ ยังพบว่า การเก็บเกี่ยวเพรียงหัวหอมเฉพาะส่วนที่เป็นชูอยด์ โดยยังคง stolon ไว้บนพื้นผิวที่เพรียง หัวหอมเกาะติด จะทำให้เพรียงหัวหอมสามารถสร้างชูอยด์จนเป็นโคโลนีใหม่มาทดแทนชูอยด์ ที่ถูกเก็บเกี่ยวไปได้



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- นกรรณพ บุญถนอม และ ปิติ จันทรวรโชติ. 2544. การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านมะเร็ง ecteinascidin alkaloids จากเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia* sp. ของไทย. ปรินิพนธ์, ปรินิพนธ์เภสัชศาสตร์บัณฑิต, ภาควิชาเภสัชเวท, คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปิยะ โกยสิน. 2548. ชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 เพื่อการเพาะเลี้ยง. วิทยานิพนธ์ปรินิพนธ์มหาบัณฑิต, ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาอังกฤษ

- Anderson, D. T., White, B. M. and Egan, E. A. 1975. The larval development and metamorphosis of the ascidians *Pyura praeputialis* (Heller) and *Pyura pachydermatina* (Herdman) (Pleurogona, family Pyuridae). **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales** 100: 205–217.
- Bates, W. R. 2005. Environment factors affecting reproduction and development in ascidians and other protochordates. **Canadian Journal of Zoology** 83: 51–56.
- Bullard, S. G., Lambert, G., Carman, M. R. Byrnes, J., Whitlatch, R. B., Ruiz, Z., Miller, R. J., Harris, L., Valentine, P. C., Collie, J. S., Pederson, J., McNaught, D. C., Cohen, A. N., Asch, R. G., Dijkstra, J. and Heinonen, K. 2007. The colonial ascidian *Didemnum* sp. A: Current distribution, basic biology and potential threat to marine communities of the northeast and west coasts of North America. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 99-108.
- Canonica, P. G., Pannier, W. L., Huggins, J. W. and Rinehart, K. L. 1982. In hibition of RNA viruses *in vitro* and in rift Valley fever-infected mice by didemnins A and B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 22 : 696–697.

- Carballo, J. L., Naranjo, S., Kukurtz, B., Calle, F. L. and Zanuy, A. H. 2000. Production of *Ecteinascidia turbinata* (Ascidiacea: Perophoridae) for Obtaining Anticancer Compounds. **Journal of the World Aquaculture Society** 31: 481-490. (Abstract only)
- Charupant, K. 2000. **Chemical constituents of a Thai *Ecteinascidia tunicate***. Master's Thesis, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.
- Chavanich, S., Koeysin, P., Viyakarn, V., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., Suwanborirux, K. and Poovachiranon, S. 2005. A tunicate from Thai coral reef: a potential source of new anticancer compounds. **Coral Reefs** 24: 621.
- Cloney, R. A. 1990. Larva tunic and the function of the test cells in ascidians. **Acta Zoologica** 71: 9-151.
- Degnan, B. M., Rohde, P. R. and Lavin, M. F. 1996. Normal development and embryonic gene activity of the ascidian *Herdmania momus*. **Marine and Freshwater Research** 47: 543-551.
- Donia, M. and Hamann, M. T. 2003. Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. **Lancet Infectious Diseases** 3: 338-348.
- Duckworth, A. R., Battershill, C. N. and Bergquist, P. R. 1977. Influence of explant procedures and environmental factor on culture success of three sponges. **Aquaculture** 156: 251-267.
- Duckworth, A. and Battershill, C. 2003. Sponge aquaculture for the production of biologically active metabolites: the influence of farming protocols and environment. **Aquaculture** 221: 311-329.
- Duckworth, A. R., Samples, G. A, Wright, A. E. and Pomponi, S. A. 2004. *In vitro* culture of the ascidian *Ecteinascidia turbinata* to supply the antitumor compounds ecteinascidins. **Aquaculture** 241: 427-439.
- Duggins, D. O., Eckman J. E., and Sewell A. T. 1990. Ecology of understory kelp environments. II. Effects of kelps on recruitment of benthic invertebrates. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 143 : 27-45.

- Forward, R. B. Jr., Welch, J. M. and Young, C. M. 2000. Light induced larval release of a colonial ascidian. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 248: 225–238.
- Gittenberger, A. 2007. Recent population expansion of non-native ascidians in The Netherlands. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 122-126.
- Glasby, T. M. 1999. Effects of shading on subtidal epibiotic assemblages. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 234: 275–290.
- Goodbody, I. 2004. Diversity and distribution of Ascidians (Tunicata) at twin cay, Belize. **Atoll Research Bulletin** 524: 1-22.
- Hart, J. B., Lill, R. E., Hickford, S. J. H., Blunt, J. W. and Munro, M. H. G. 2000. The halichondrins: chemistry, biology, supply and delivery. **Drugs from the Sea** 134-153.
- Hendriks, H. R., Fiebig, H. H., Giavazzi, R., Langdon, S. P., Jimeno, J. M. and Faircloth, G. T. 1999. High antitumor activity of ET 743 against human tumor xenografts from melanoma, non-small-cell Lung and ovarian cancer. **Annals of Oncology** 10 : 1233–1240.
- Hickman, C. P. 1973. **Biology of the Invertebrates**. 2nd ed. Saint Louis: The C. V. Mosby Company.
- Hoppe, W. F. 1988. Growth, regeneration and predation in three species of large coral reef sponges. **Marine Ecology Progress Series** 50: 117–125.
- Kaandorp, J. A. and de Kluijver, M. J. 1992. Verification of fractal growth medels of the sponge *Haliclona oculata* (Porifera) with transplantation experiments. **Marine Biology** 113: 133–143.
- Kennelly, S. J. 1989. Effects of kelp canopies on understorey species due to shade and scour. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 50: 215–224.
- Kerr, R. G. and Kerr, S. S. 1999. Marine natural products as therapeutic agents. **Expert Opinion on Therapeutic Patents** 9: 1207–1222.
- Lambert, C. C. 2005. Historical introduction, overview, and reproductive biology of the protochordates. **Canadian Journal of Zoology** 83: 1–7.

- Lambert, G. 2002. Nonindigenous Ascidians in Tropical Waters. *Pacific Science*. 56: 291-298.
- Lambert, G. 2007. Invasive sea squirts: A growing global problem. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 3-4.
- Locke, A. Hanson, J. M., Ellis, K. M., Thomson, J. and Rochette, R. 2007. Tnvasion of the southern Gulf of St. Lawrence by the clubbed tunicate (*Styela clava* Herdman): Potential mechanisms of invasions of Prince Edward Island estuaries. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 69-77.
- Mendola, D. 2000. Aquacultural production of bryostatin I and ecteinascidin 743. **Drugs from the Sea** 120-133.
- Mendola, D. 2003. Aquaculture of three phyla of marine invertebrates to yield bioactive metabolites: process developments and economics. **Biomolecular Engineering** 20: 441-458.
- Page, M. J., Northcote, P. T., Webb, V. L., Mackey, S. and Handley, S. J. 2005. Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae : Poecilosclrida). **Aquaculture** 250: 256–269.
- Proksch, P., Edrada-Ebel, R. A. and Ebel, R. 2002. Drugs from the sea – Current status and microbiological implications. **Applied Microbiology and Biotechnology** 59: 125–134.
- Proksch, P., Edrada-Ebel, R. A. and Ebel, R. 2003. Drugs from the Sea – Opportunities and obstacles. **Marine Drugs** 1: 5–17.
- Rinehart, K. L., Gloer, J. B., Hughes, R. G., Renis, H. E., McGovren, J. P., Swynenberg, E. B., Stringfellow, D. A., Kuentzel, S. L., and Li, L. H. 1981. Didemnins: Antiviral and antitumor depsipeptides from a Caribbean tunicate. **Science** 212: 933–935.
- Rinehart, K. L., Holt, T. G., Fregeau, N. L., Keifer, P. A., Wilson, G. R., Perun Jr., T. J., Sakai, R., Thompson, A. G., Stroh, J. G., Shield, L. S., Seigler, D. S., Li, L. H., Martin, D. G., Grimmelikhuijzen, J. P. G. and Gade, G. 1990. Bioactive compounds from aquatic and terrestrial sources. **Journal of Natural Products** 53(4): 771–792.
- Ruppert, E. E. and Barnes, R. D. 1994. **Invertebrate Zoology**. 6th Edition. U.S.A.: Saunders College Publishing.

- Sakai, R., Rinehart, K. L., Kishore, V., Kundu, B., Faircloth, G., Gloer, J. B., Carney, J. R., Namikoshi, M., Sung, F., Hughes, R. G., Gravalos, D. G., Garcia de Quesada, T., Wilson, G. R. and Heid, R. M. 1996. Structure-Activity relationships of didemnins. **Journal of Medicinal Chemistry** 39: 2819–2834.
- Scotto, K. W. 2002. ET-743: A novel marine-derived anti-tumor agent. **Anti-Cancer Drugs** 13: 3–6.
- Suwanborirux, K., Charupant, K., Amnuoypol, S., Pummangura, S., Kubo, A. and Saito, N. 2002. Ecteinascidins 770 and 786 from the Thai tunicate *Ecteinascidia thurstoni*. **Journal of Natural Products** 65: 935–937.
- Svane, I. and Dolmer, P. 1995. Perception of light at settlement: A comparative study of two invertebrate larvae, a scyphozoan planula and a simple ascidian tadpole. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 187: 51–61.
- Thiyagarajan, V. and Qian, P. 2003. Effect of temperature, salinity and delayed attachment on development of the solitary ascidian *Styela plicata* (Lesueur). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 290: 133–146.
- Tyrrell, M. C. and Byers, J. E. 2007. Do artificial substrates favor nonindigenous fouling species over native species?. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 54–60.
- Valentine, P. C., Carman, M. R., Blackwood, D. S. and Heffron, E. 2007. Ecological observations on the colonial ascidian *Didemnum* sp. In a New England tide pool habitat. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 109–121.
- Vázquez, E. and Young, C. M. 2000. Effects of low salinity on metamorphosis in estuarine colonial ascidians. **Invertebrate Biology** 119: 433–444. (Abstract only)
- Wright, A. E., Folreo, A. D., Gunawardana, P. G., Gunasekera, P. S., Koehn, E. F. and McConnell, J. O. 1990. Antitumor tetrahydroisoquinoline alkaloids from the colonial ascidian *Ecteinascidia turbinata*. **Journal of Organic Chemistry** 55: 4508–4512.
- Young, C. M. and Vazquez, E. 1995. Morphology, larval development, and distribution of *Bathypera feminalba* n. sp. (Asciacea: Pyundae) a deep-water ascidian from the fjords and sounds of British Columbia. **Invertebrate Biology** 114: 89–106.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

ขั้นตอนการคำนวณการเตรียม Phosphate buffer solution

การเตรียม Phosphate buffer solution ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.2 M 25 % solution กับโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.2 M 15 % solution มีวิธีคำนวณ stock solution ดังนี้

NaOH มี Molecular weight (MW) = 40

$$\begin{aligned} \text{จาก } \frac{\text{น้ำหนัก (g)}}{\text{MW}} &= \text{mol} \\ \frac{\text{g}}{40} &= 0.2 \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น } \text{g} = 8 \text{ g/L}$$

$$\text{และจาก } \text{M} = \text{mol/L}$$

หากต้องเตรียม solution 200 ml

จะต้องชั่ง NaOH มา 1.6 g ละลายในน้ำ 200 ml

KH_2PO_4 มี Molecular weight (MW) = 136.09

$$\begin{aligned} \text{จาก } \frac{\text{น้ำหนัก (g)}}{\text{MW}} &= \text{mol} \\ \frac{\text{g}}{136.09} &= 0.2 \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น } \text{g} = 27.218 \text{ g/L} = \text{ประมาณ } 27 \text{ g/L}$$

$$\text{และจาก } \text{M} = \text{mol/L}$$

หากต้องการเตรียม solution 200 ml

จะต้องชั่ง KH_2PO_4 มา 5.4436 g (ประมาณ 5.4 g) ละลายในน้ำ 200 ml

จาก stock solution ทั้งสอง ต้องการเตรียม Phosphate buffer solution 200 ml จะต้องใช้ NaOH 0.2 M 50 ml ร่วมกับ KH_2PO_4 0.2 M 30 ml แล้วเติมน้ำให้ครบ 200 ml ก็จะได้ Phosphate buffer solution ตามต้องการและจากการ calibrate ปริมาณของ buffer ที่จะต้องใช้ใน แต่ละ flask พบว่าต้องใช้ phosphate buffer solution เติม flask ละ 2 มิลลิลิตร จึงจะทำให้ได้ pH 7

การคำนวณการใช้ KCN

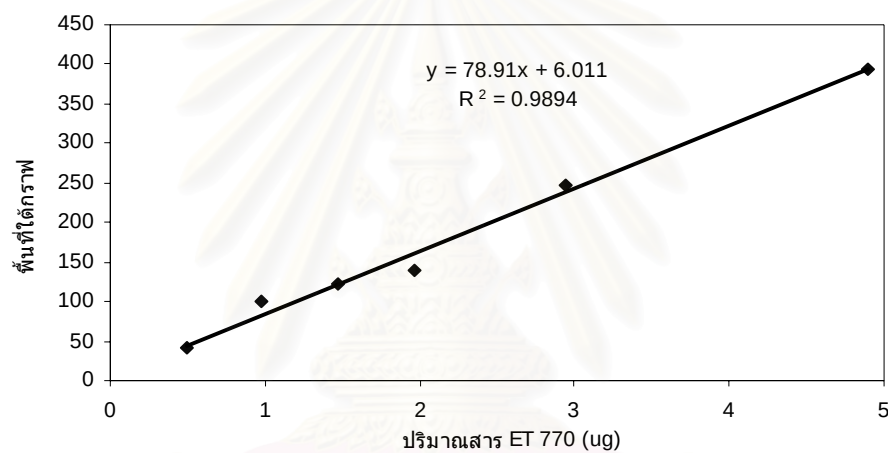
เตรียม KCN solution โดยใช้ KCN 10 g ในน้ำ 100 มิลลิลิตร ดังนั้นจะได้ KCN 10% g / ml

การคำนวณ (KCN มี MW = 65.12)

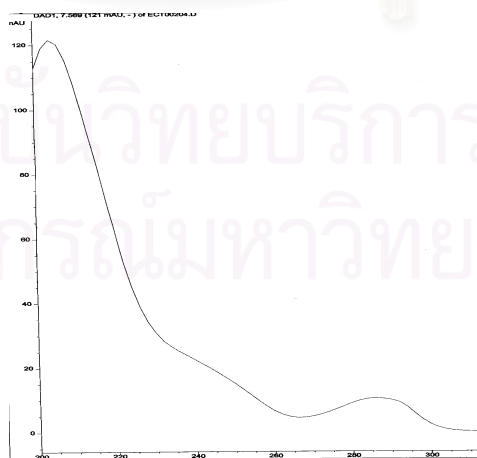
ปริมาณตัวอย่าง 1000 ml ใช้ KCN $10 \times 65.12 \times 103$ กรัม

ปริมาณตัวอย่าง 200 ml ใช้ KCN $\frac{10 \times 65.12 \times 103}{200} = 0.13024$ g

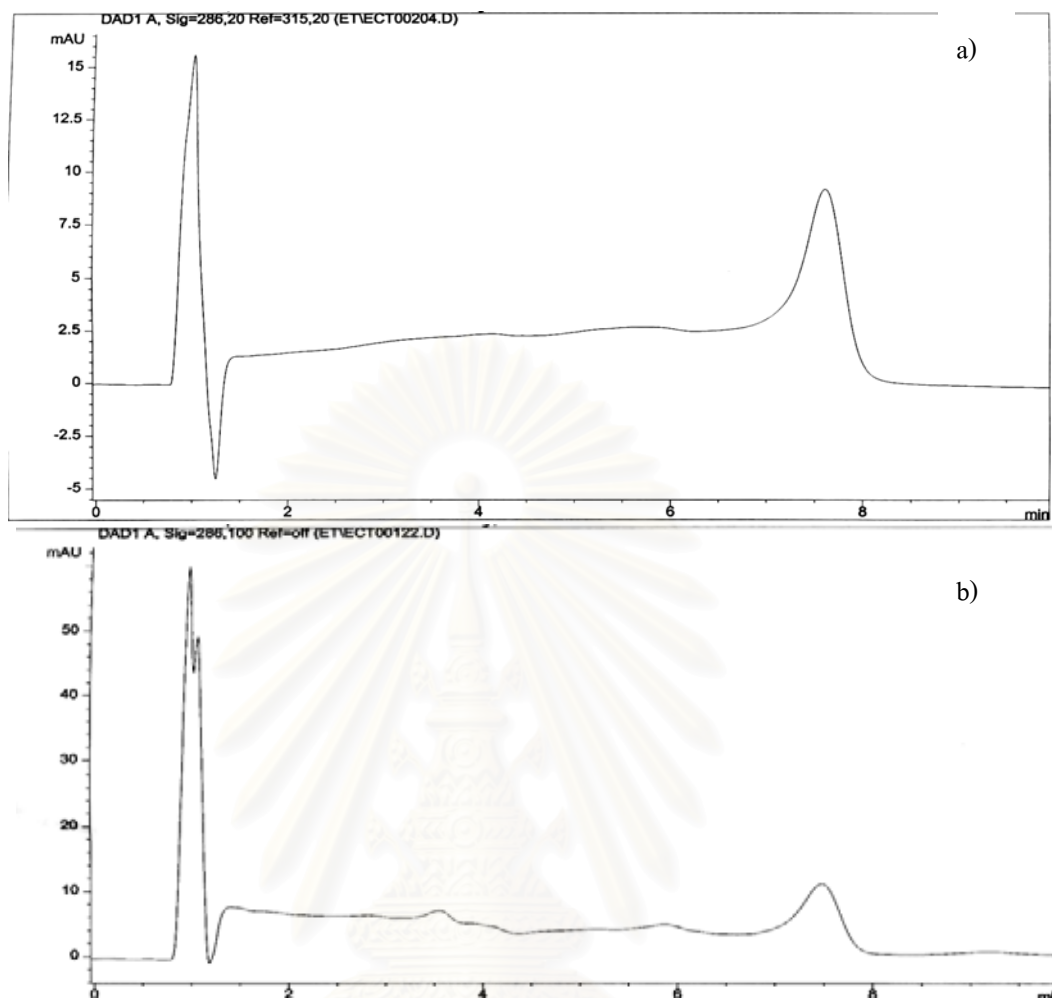
ค่ามาตรฐาน สาร ET 770



ภาคผนวก ก-1. ค่ามาตรฐานสาร ET 770



ภาคผนวก ก-2. ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน ET 770

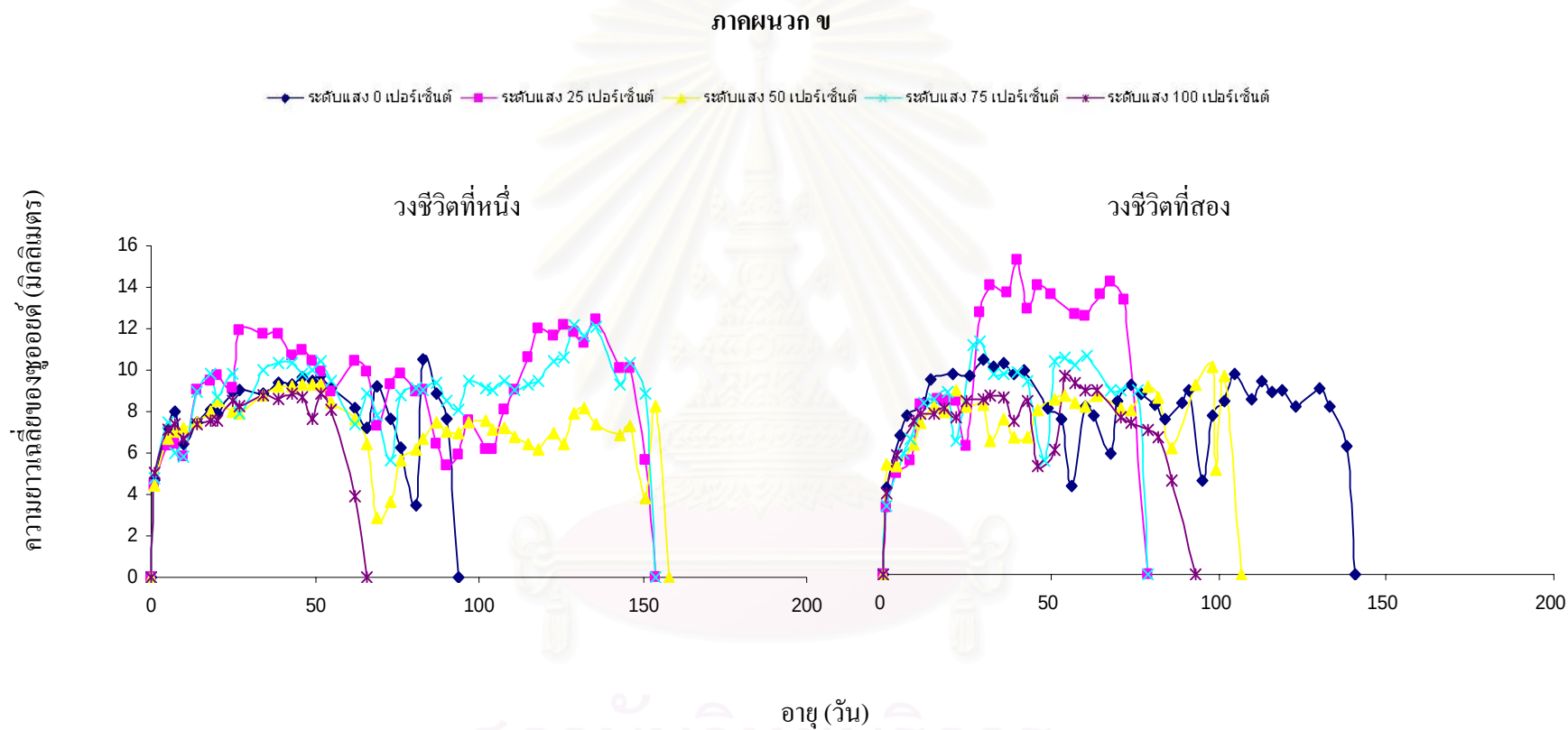


ภาคผนวก ก-3. โครมาโทแกรมของสาร ET 770 มีค่า retention time เท่ากับ 7.6 นาที

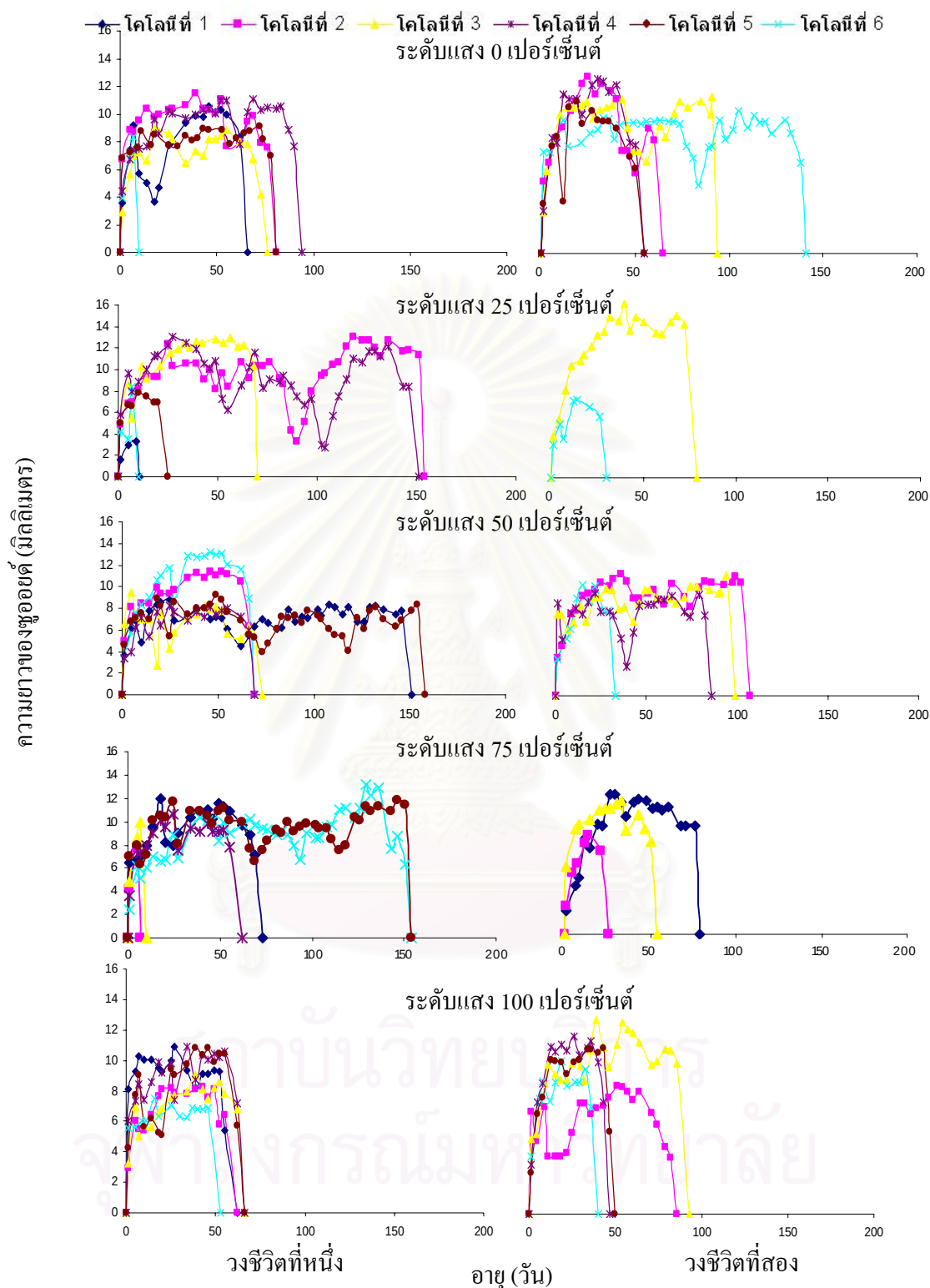
a) สารมาตรฐาน ET 770

b) สาร ET 770 ที่เปรียงหัวหอมจากการเลี้ยงผลิต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

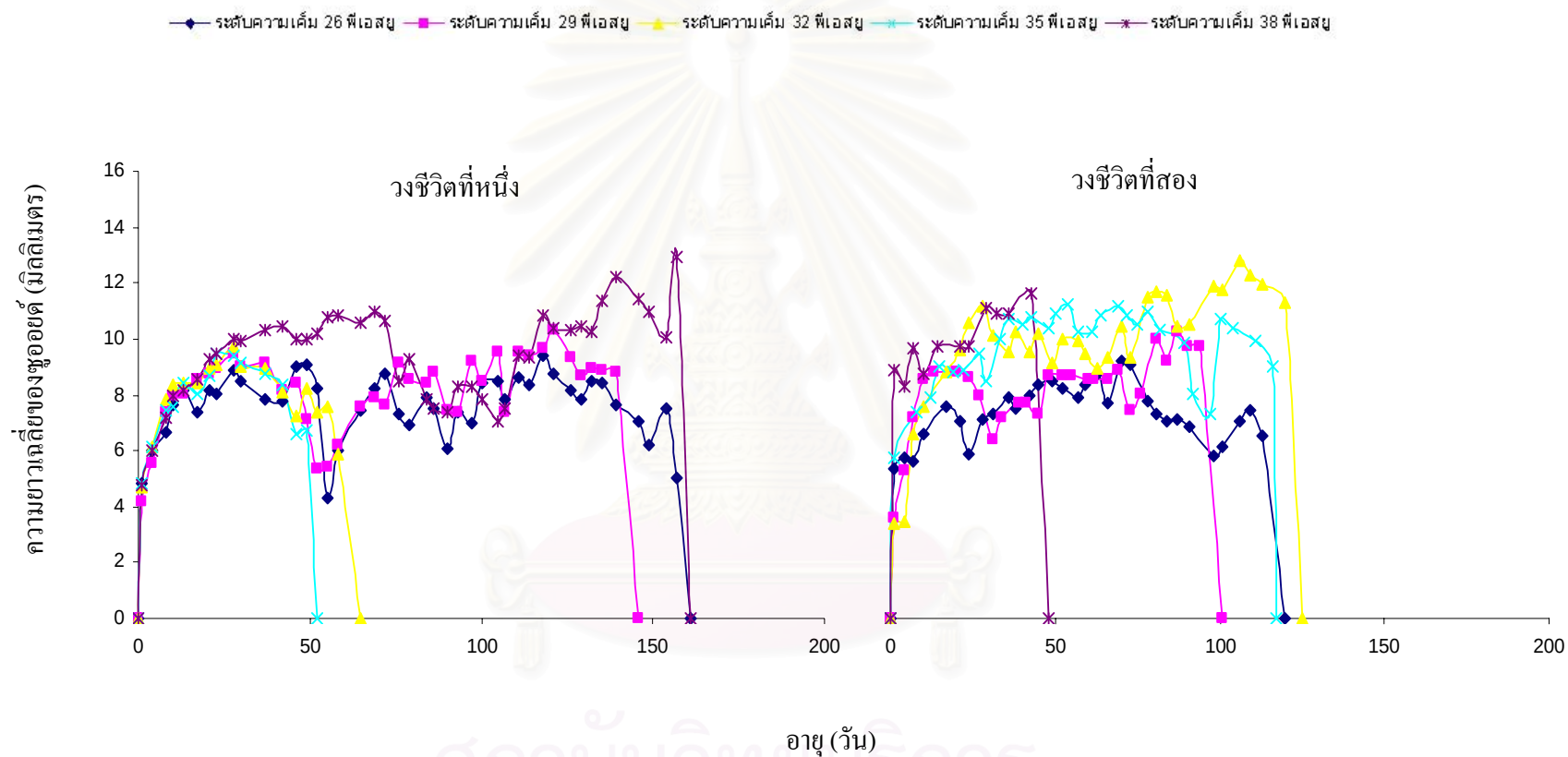


ภาคผนวก ข-1. ความยาวเฉลี่ยของซุออยด์เฟรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

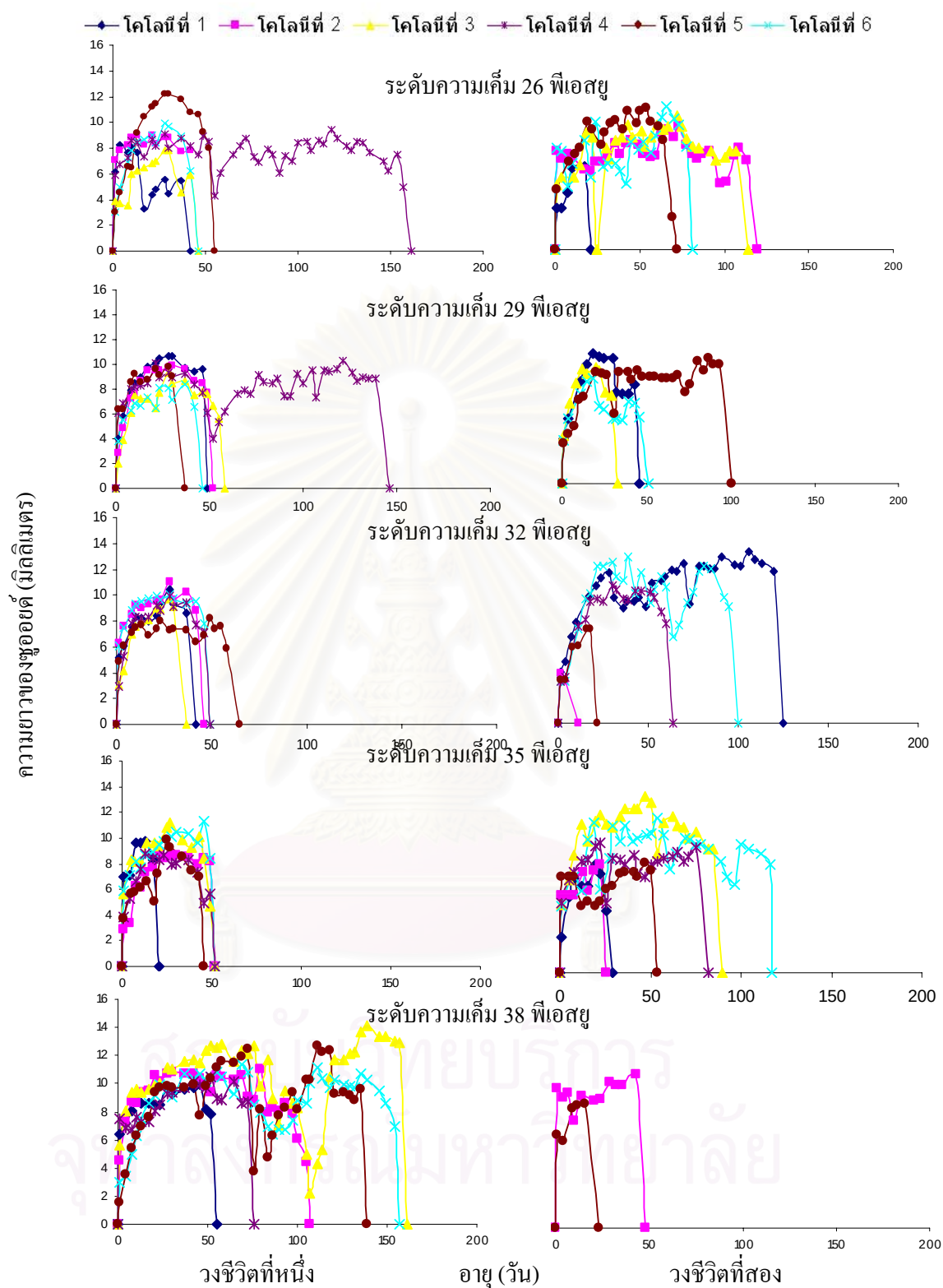


ภาคผนวก ข-2. ความยาวชูออยด์ของโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

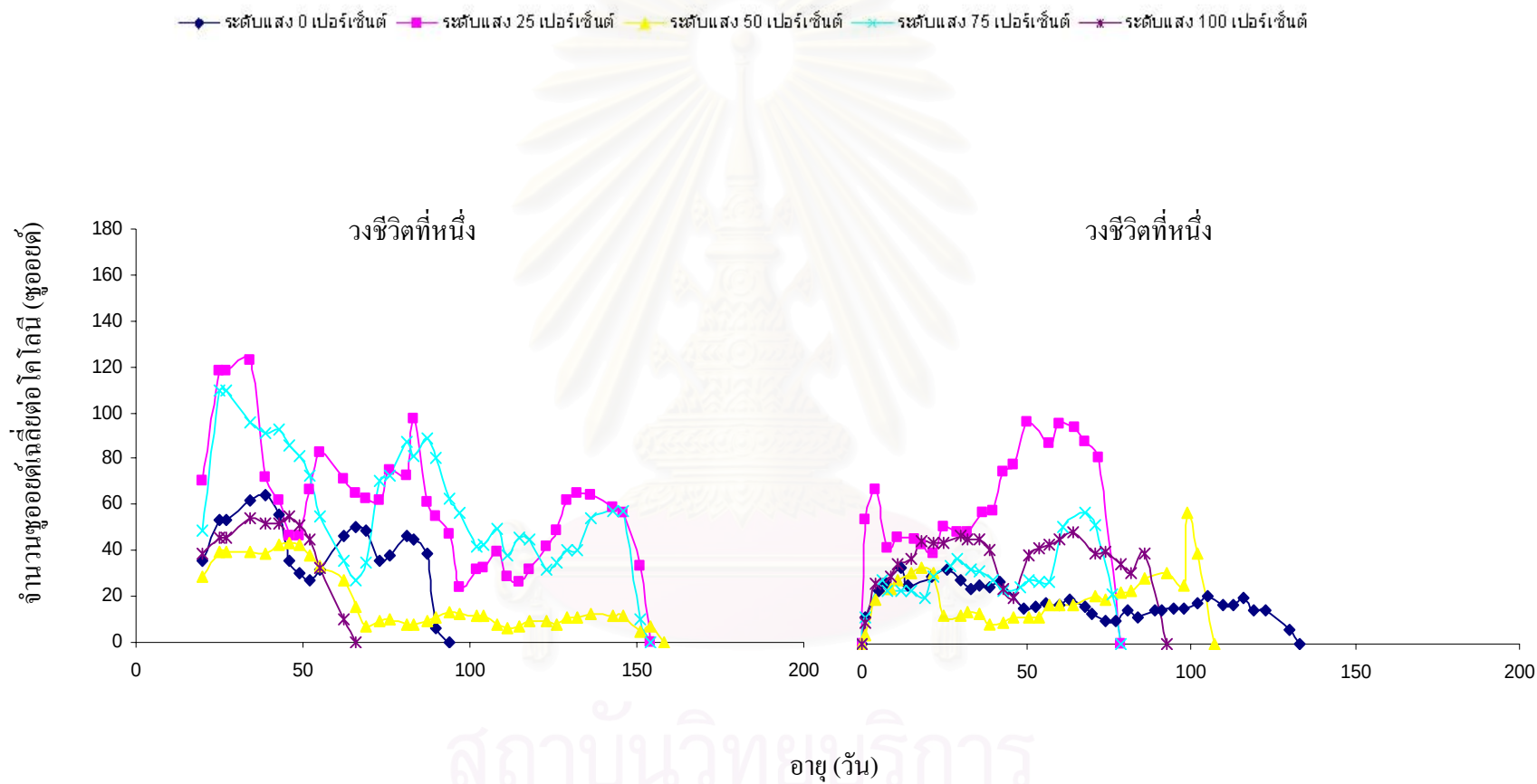


ภาคผนวก ข-3. ความยาวเฉลี่ยของซุออยด์เพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

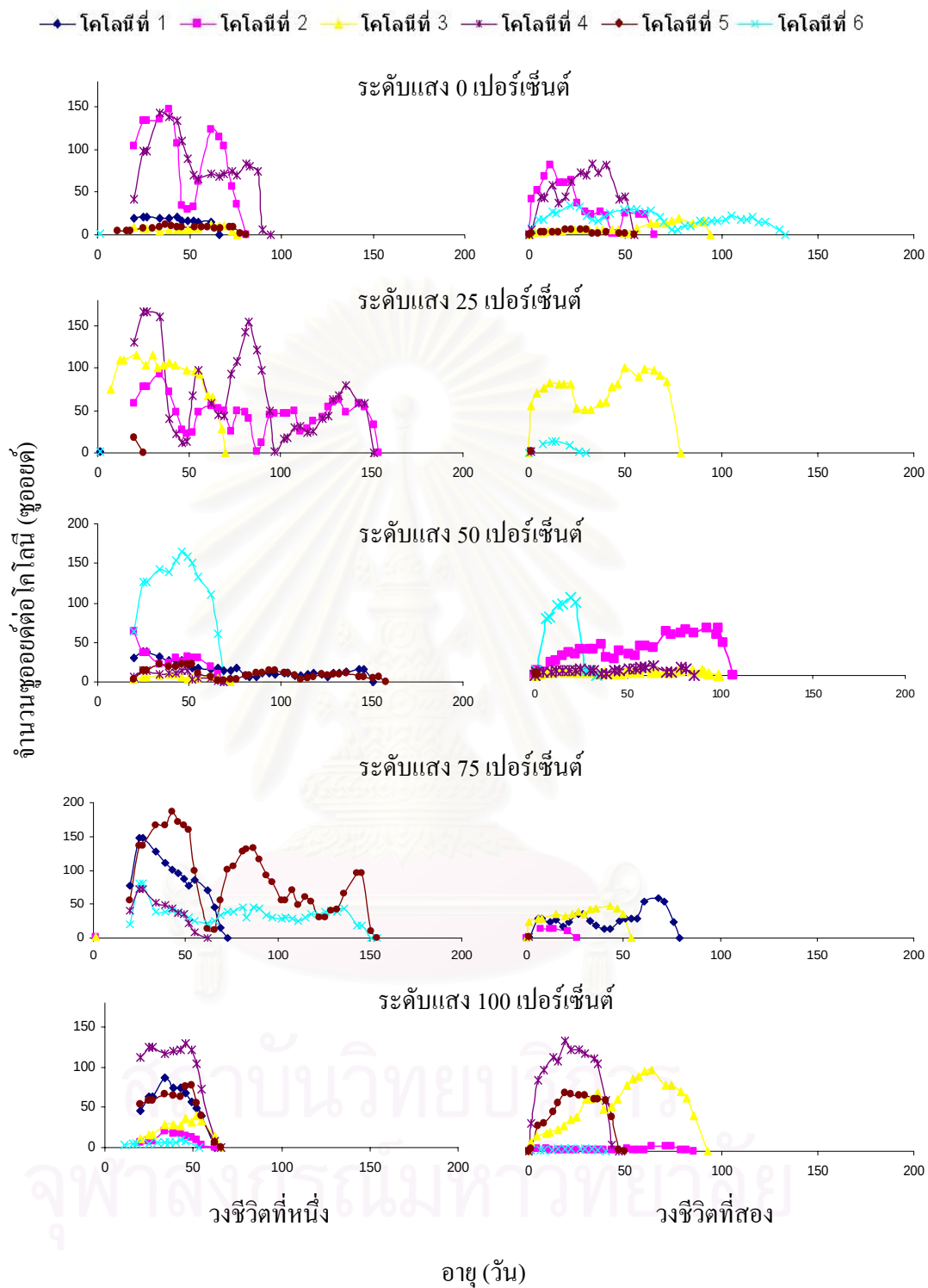


ภาคผนวก ข-4. ความยาวชูออยด์ของโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

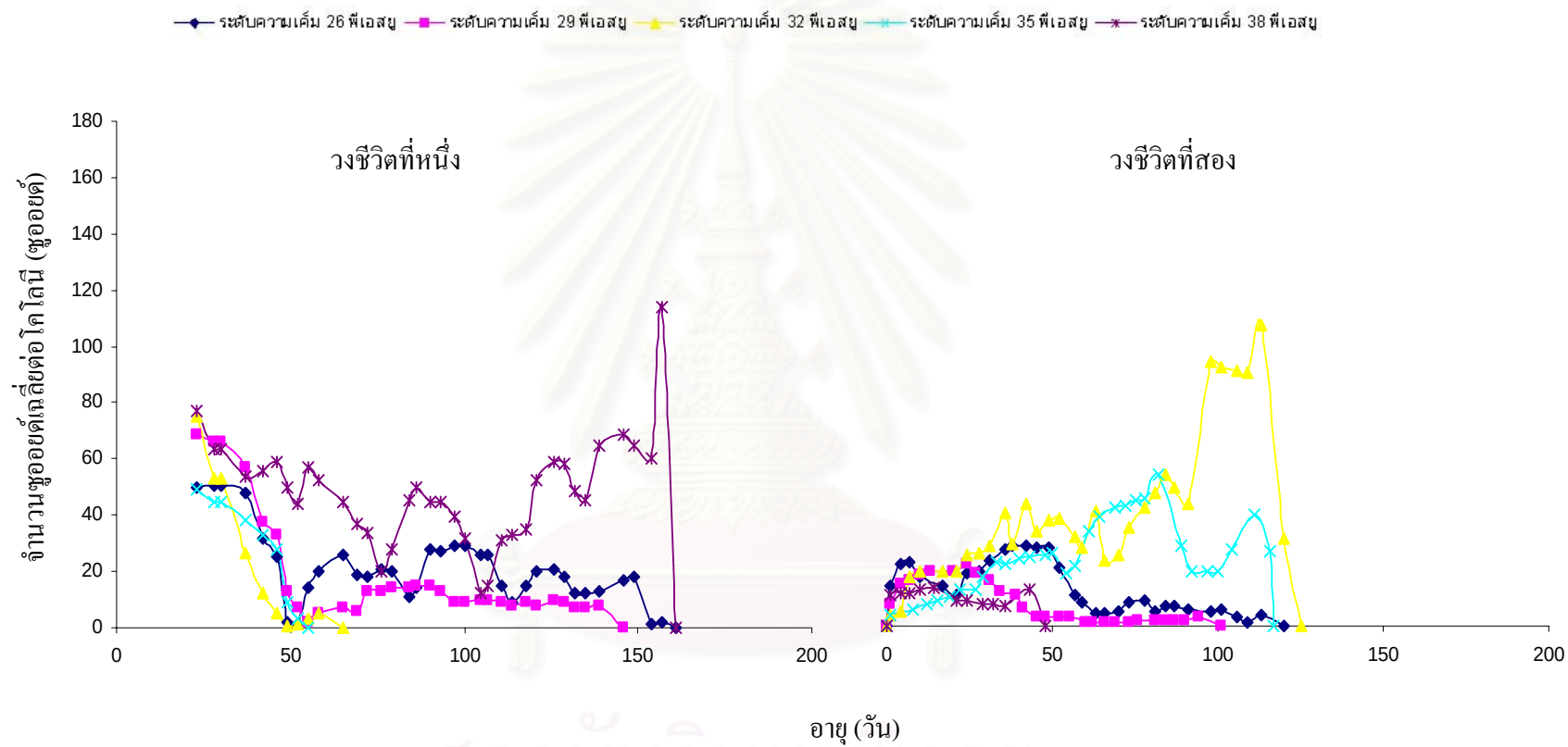


ภาคผนวก ข-5. จำนวนซูออกไซด์เฉลี่ยของโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่ต่างกัน

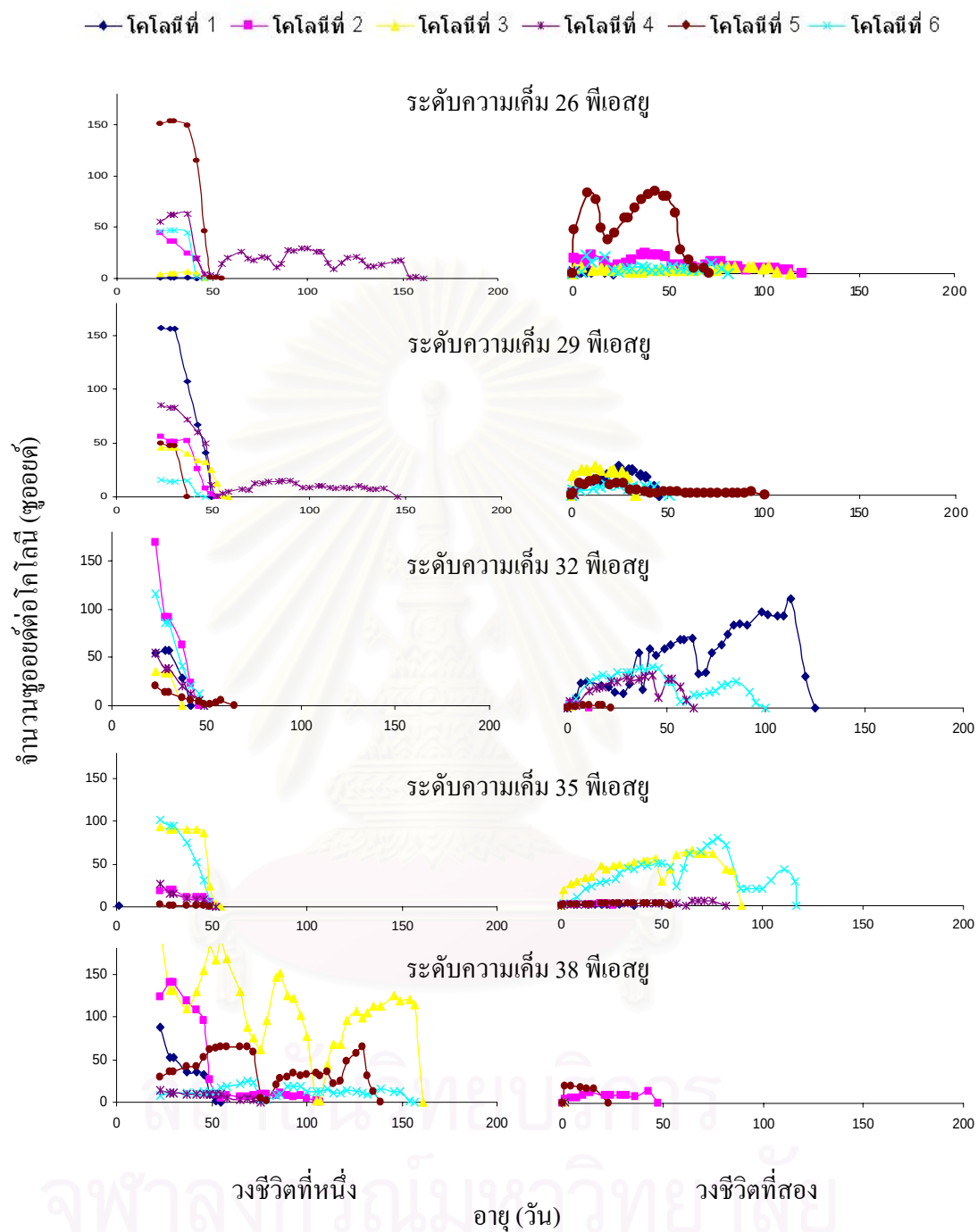


ภาคผนวก ข-6. จำนวนชอยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

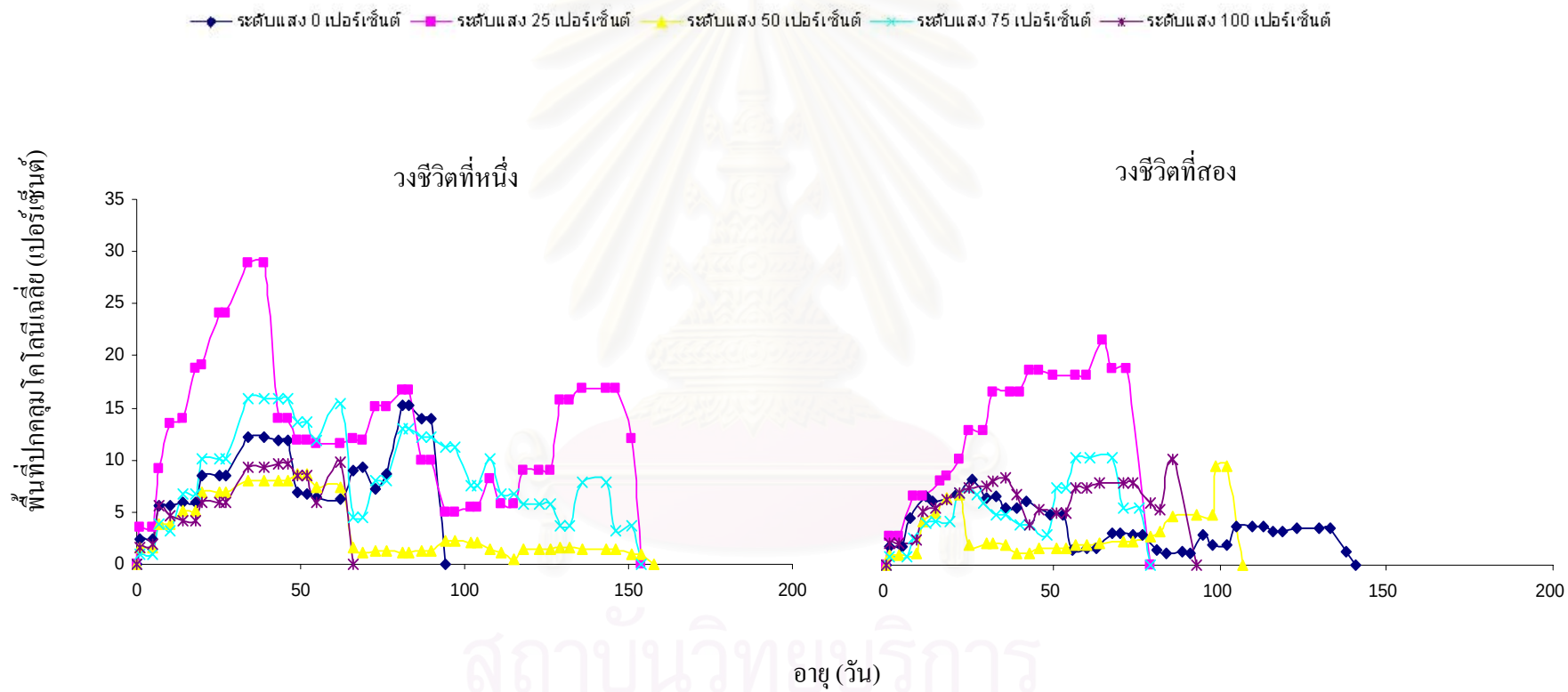


ภาคผนวก ข-7. จำนวนซุออยด์เฉลี่ยของโคโลนีเฟรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

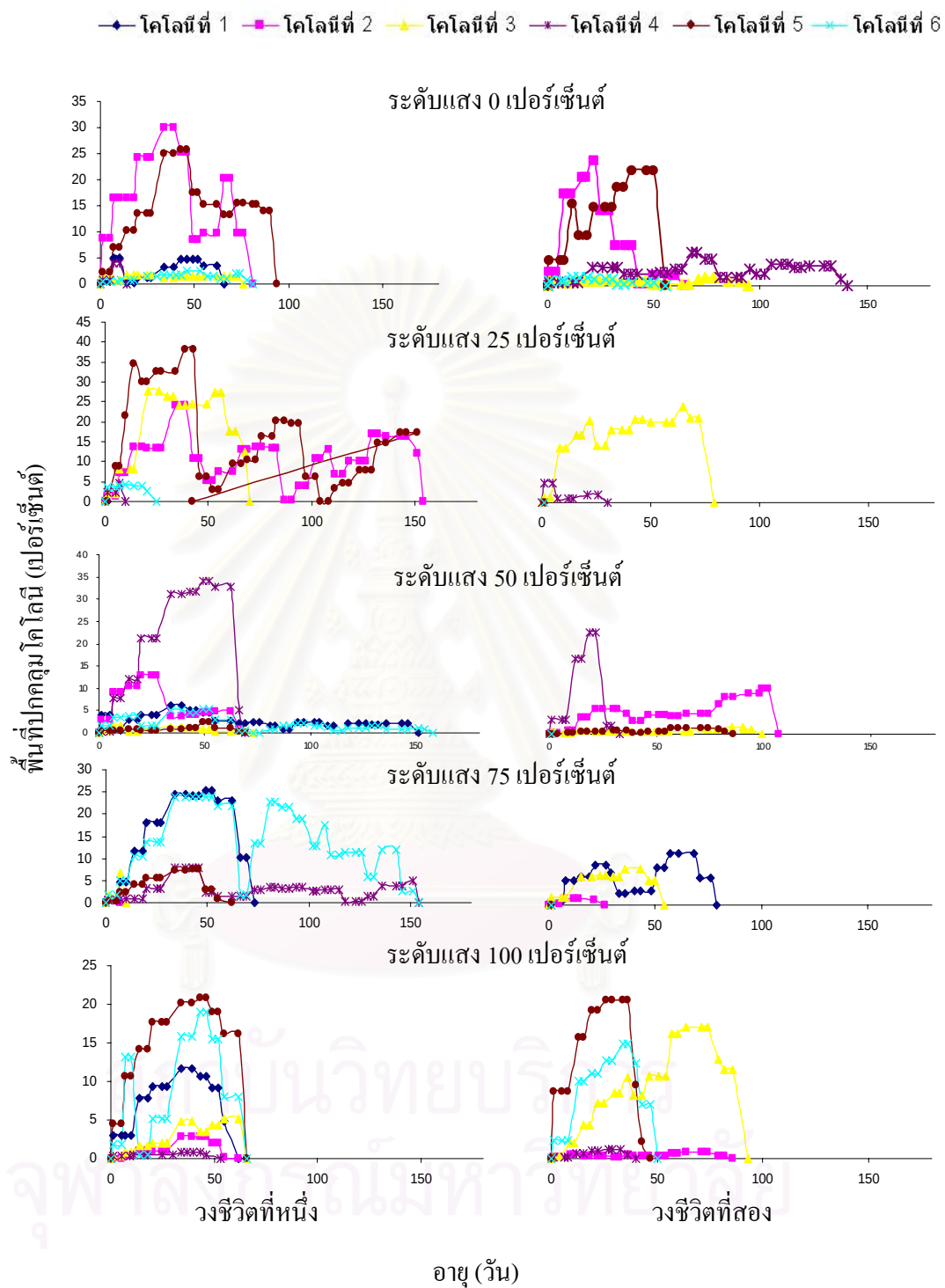


ภาคผนวก ข-8. จำนวนชูออยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเต็มที่แตกต่างกัน

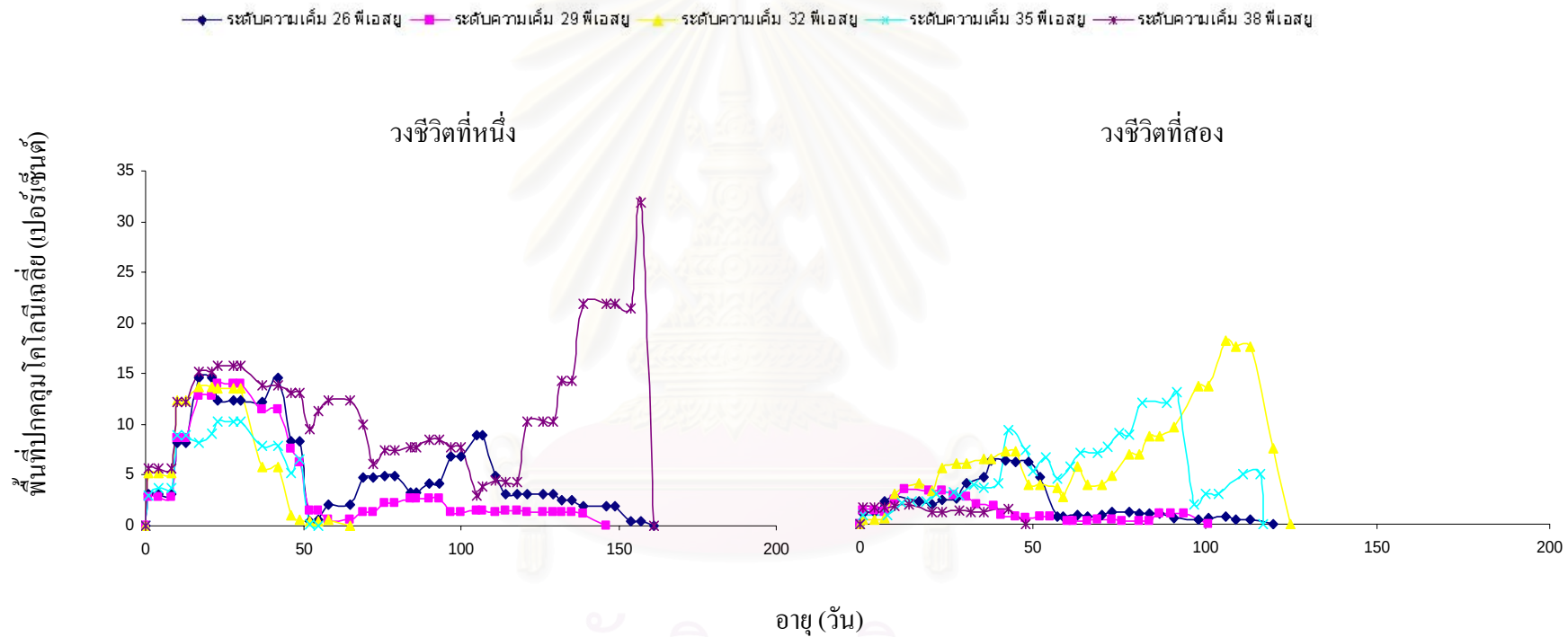


ภาคผนวก ข-9. พื้นที่ปกคลุมโคโลนีเฉลี่ยของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

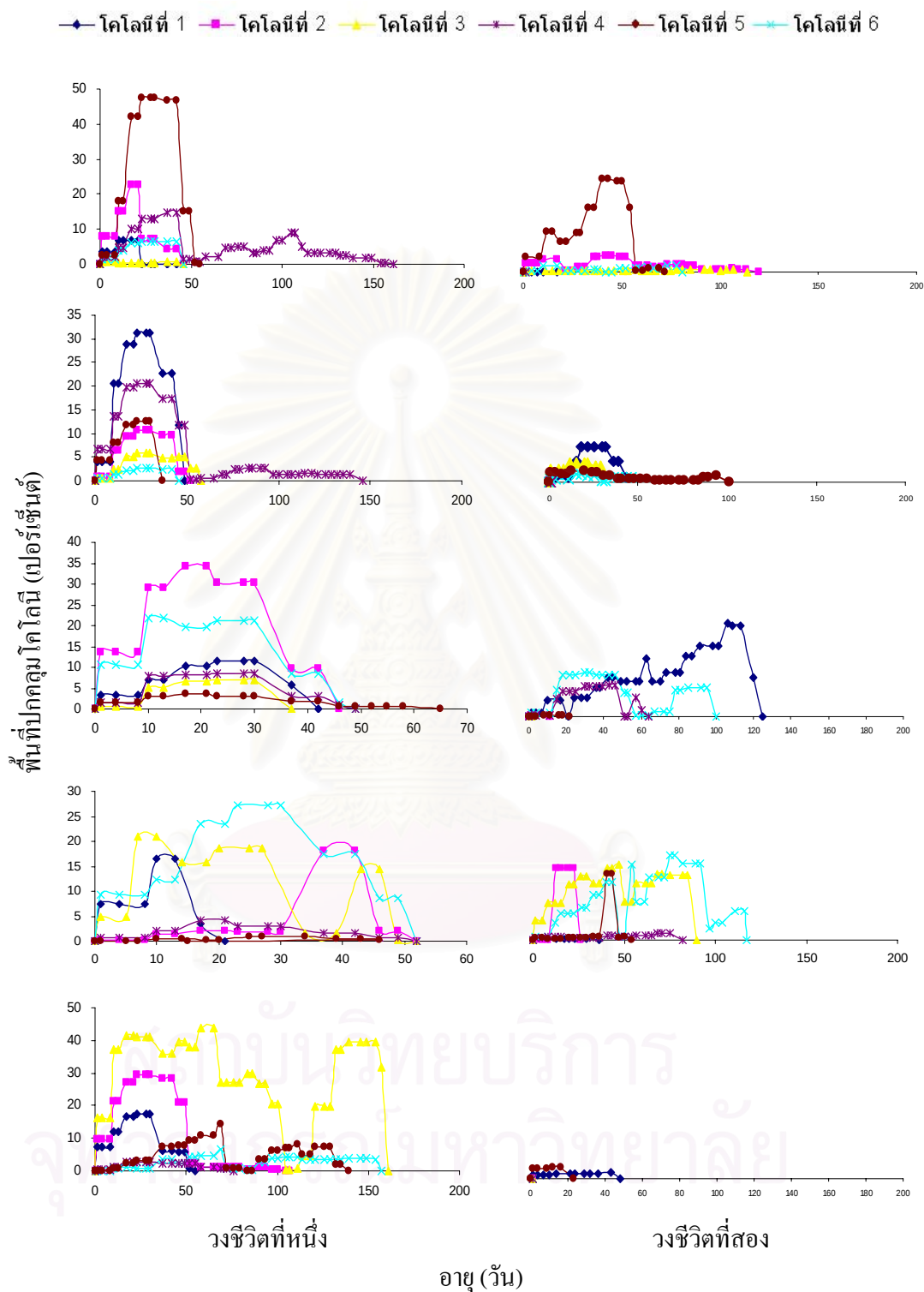


ภาคผนวก ข-10. พื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



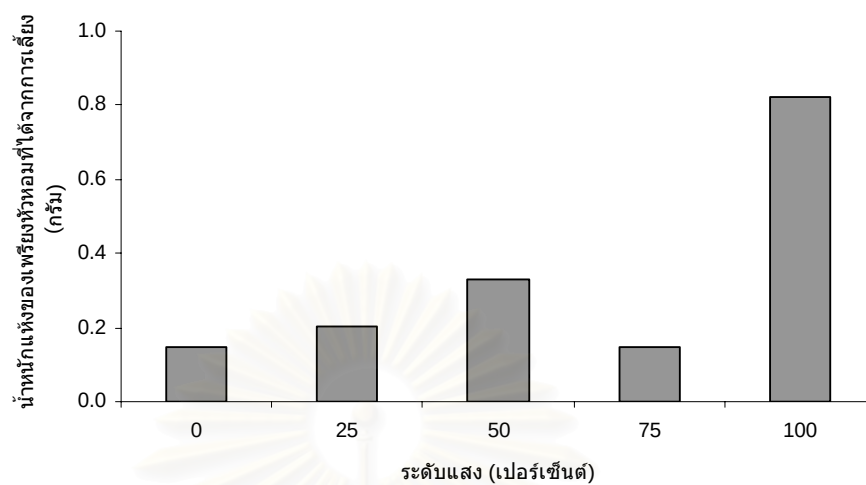
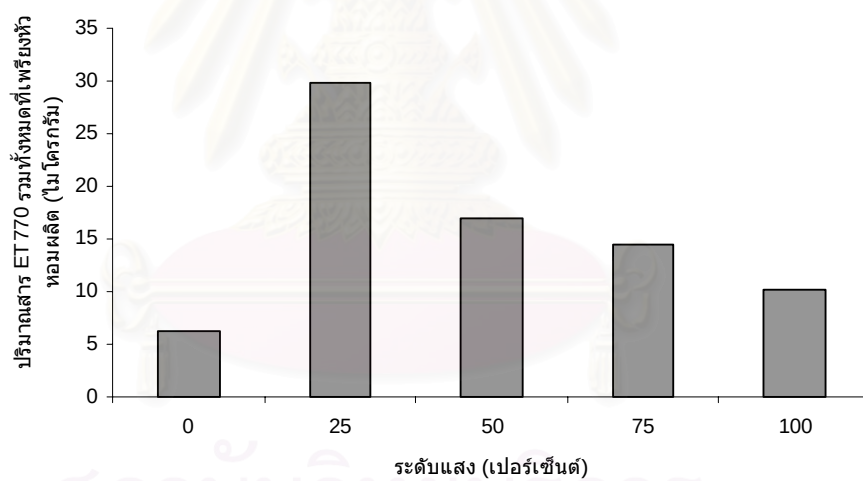
ภาคผนวก ข-11. พื้นที่ปกคลุมโคโลนีเฉลี่ยของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงจรชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

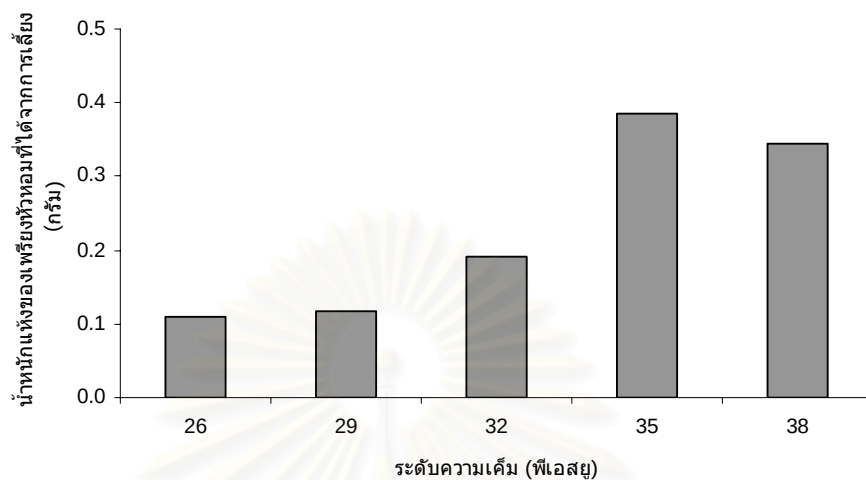


ภาคผนวก ข-12. พื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

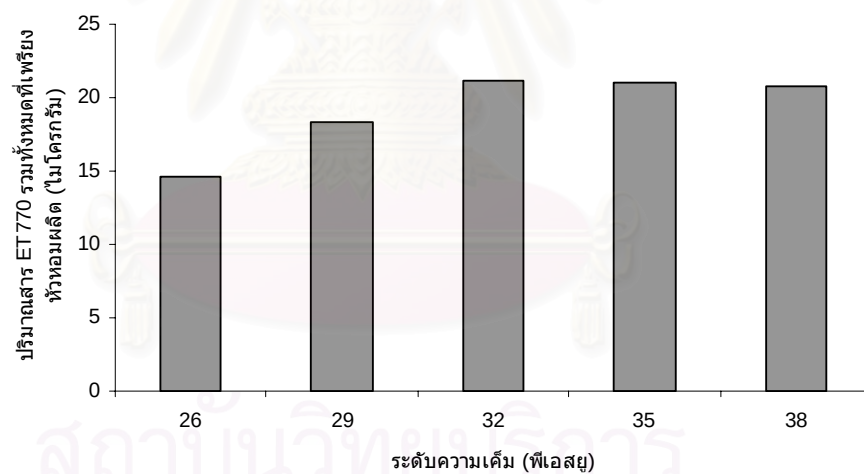
ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

ภาคผนวก ก

ภาคผนวก ก-1. ผลผลิตรวมของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกันภาคผนวก ก-2. ผลผลิตรวมของสาร ET 770 จากเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



ภาคผนวก ก-3. ผลผลิตรวมของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน



ภาคผนวก ก-4. ผลผลิตรวมของสาร ET 770 จากเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวจิตติมา อุ่มอารีย์ เกิดวันที่ 12 ตุลาคม 2522 ที่จังหวัด กระบี่ สำเร็จการศึกษาระดับ วิทยาศาสตร์บัณฑิต วาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในปีการศึกษา 2543 หลังจากนั้นจึง เข้าทำงานเป็นอาจารย์ ในตำแหน่งอาจารย์อัตราจ้าง คณะประมง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล จังหวัดลำปาง เป็นเวลา 2 ปี ในปีการศึกษา 2544-2545 ก่อนที่จะเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2546 และได้รับทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์จาก โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT T_348008 และจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2548 นอกจากนั้นในปี พ.ศ. 2548 ได้เข้าร่วมเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ในหัวข้อเรื่อง ผลของแสงและความเค็มต่อการ เติบโตและการผลิตสาร Ecteinascidins ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 ในงานประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย