



รายงานผลการดำเนินงาน
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2557

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

บทบาทและความสำคัญของทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบนิเวศ – 3:
ความสามารถของทากเปลือยในระบบเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสาร renieramycin

Important roles of the nudibranch, *Jorunna funebris*, in the ecosystems – 3:
Potential of producing renieramycin from rearing *Jorunna funebris*

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์
รองศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิทยาญจน์
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557 คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และนิสิตกลุ่มการวิจัย ชีววิทยาปะการัง รวมถึง ผู้สนับสนุนงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานทั้งหมดเป็นอย่างดี ตลอดมา

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาการเติบโตและความสามารถในการผลิตสารรีเนียร์ามัย (renieramycin) ของทากเปลือย *Jorunna funebris* เมื่อถูกนำมาเลี้ยงในระบบเลี้ยงทั้งบนบกและในทะเล ผลการศึกษาพบว่าทากเปลือยที่เลี้ยงในทะเลมีการเติบโตที่สูงกว่าเลี้ยงในระบบเลี้ยงอย่างชัดเจน แต่ไม่พบความแตกต่างของอัตราการระหว่างชุดการทดลองในระบบเลี้ยงและในทะเล สำหรับผลการผลิตและปริมาณสารรีเนียร์ามัยซินที่ได้จากการเลี้ยงทากเปลือยในระบบเลี้ยงและในทะเลพบว่า ทากเปลือยที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงมีแนวโน้มในการผลิตสารรีเนียร์ามัยซินลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ทั้งจำนวนตัวที่พบการผลิตสารและปริมาณในการผลิต ขณะที่ทากเปลือยที่นำมาเลี้ยงในทะเลไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ประสิทธิภาพการสร้างสารรีเนียร์ามัยซินที่ลดลงอาจเป็นผลมาจากการที่ทากเปลือยถูกเลี้ยงในสถานที่ที่มีความปลอดภัยหรือในระบบเลี้ยงซึ่งปราศจากศัตรู ทำให้ทากเปลือย *Jorunna funebris* อาจไม่มีความจำเป็นในการผลิตสารดังกล่าว

คำสำคัญ: *Jorunna funebris* ทากเปลือย renieramycin ระบบเลี้ยง ศัตรู

Abstract

Growth of nudibranch, *Jorunna funebris*, and production of renieramycin were investigated. Nudibranchs were either raised in closed containers in tanks or in the sea. The results from the experiments showed that nudibranchs raised in the sea had higher growth rates compared to the ones in the tanks. However, there was no significant difference on the survival rate of the nudibranchs between in the tanks and in the sea. When the renieramycin productions were measured, the results showed that nudibranchs raised in the tanks tended to reduce the renieramycin productions during the experimental trials while the nudibranchs in the sea did not show the reduction of the production. Usually, increase and/or decrease of renieramycin productions is a result of the predator presence or a result of predator detection. In the tanks, no predator was detected by nudibranchs, and thus, there was no need for the nudibranchs to produce the renieramycin.

Keywords: *Jorunna funebris*, nudibranch, renieramycin, tank, predator

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	i
บทคัดย่อภาษาไทย.....	li
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	lii
สารบัญเรื่อง.....	lv
สารบัญตาราง	v
สารบัญรูป	vi
บทนำ.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
วิธีดำเนินการวิจัยและแผนการปฏิบัติงาน.....	3
สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล.....	6
ผลการดำเนินงาน.....	6
สรุปและวิจารณ์ผล.....	9
เอกสารอ้างอิง.....	10

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. รายละเอียดแผนการปฏิบัติงานปีงบประมาณ 2557 (ตุลาคม 2556 – กันยายน 2557) .	4
ตารางที่ 2. เงื่อนไขการศึกษาปีงบประมาณ 2557 (ตุลาคม 2556 – กันยายน 2557)	5

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1. การเติบโตโดยน้ำหนักของหากเปลือย <i>Jorunna funibris</i> ตลอดการทดลอง 12 สัปดาห์.....	6
รูปที่ 2. อัตราการเติบโตโดยน้ำหนักต่อสัปดาห์ของหากเปลือย <i>Jorunna funibris</i> ตลอดการทดลอง 12 สัปดาห์.....	7
รูปที่ 3. อัตรารอดของหากเปลือย <i>Jorunna funibris</i> ตลอดการทดลอง 12 สัปดาห์.....	7
รูปที่ 4. เปอร์เซนต์ของจำนวนหากเปลือย <i>Jorunna funibris</i> ที่พบว่ามีการผลิตสารรีเนียร์มายซินในช่วงเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์.....	8
รูปที่ 5. ปริมาณสารรีเนียร์มายซินที่มีการผลิตโดยหากเปลือย <i>Jorunna funibris</i> ในช่วงเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์.....	8

บทบาทและความสำคัญของทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบนิเวศ – 3:
ความสามารถของทากเปลือยในระบบเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสาร renieramycin

Important roles of the nudibranch, *Jorunna funebris*, in the ecosystems – 3:
Potential of producing renieramycin from rearing *Jorunna funebris*

สุชนา ชวนิชย์ และ วรณพ วียกาญจน์

Suchana Chavanich and Voranop Viyakarn

กลุ่มการวิจัยชีววิทยาแนวปะการัง ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

Reef Biology Research Group, Department of Marine Science, Faculty of Science,
Chulalongkorn University, Phyathai road, Patumwan, Bangkok 10330, THAILAND

1. บทนำ

ทากเปลือย (nudibranchs) เป็นสัตว์ทะเลจำพวกหอย (Phylum Mollusca) กลุ่มหอยฝาเดียว (Class Gastropoda) ซึ่งหมายถึงสัตว์ที่มีส่วนเท้าติดกับส่วนท้อง สัตว์กลุ่มนี้มีความหลากหลายของจำนวนชนิดสูงและมีจำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์กลุ่มอื่นในชั้นย่อย (Subclass) Opisthobranchia เดียวกัน พบเป็นจำนวนมากกว่า 900 ชนิดทั่วโลก ทากเปลือยถูกจำแนกออกเป็น 4 อันดับย่อย (Suborder) ได้แก่ Doridacea, Dendronotacea, Arminacea และ Aeolidacea ในอันดับ (Order) Nudibranchia (Jensen, 2000) ลักษณะทั่วไปเป็นสัตว์ที่มีเปลือกในระยะแรกของการเป็นตัวอ่อน และทำการทิ้งเปลือกภายหลังที่ฟักออกจากไข่ ส่วนของลำตัวไม่แบ่งเป็นปล้อง มีสมมาตรซ้ายขวา ประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนเท้า แมนเทิล และอวัยวะภายใน (Harris 1973; Thompson 1976; Behrens 1991)

ทากเปลือยอาศัยอยู่ในทะเล ตั้งแต่ชายฝั่งจนถึงทะเลลึก เขตร้อนจนถึงเขตหนาว (Clark 1975; Nybakken 1978; Gosliner and Draheim 1996; Cobb and Willan 2006; Debelius and Kuitert 2007) เป็นสัตว์ที่พบได้ยาก สามารถพบได้ตามซอกหิน ปะการัง ฟองน้ำ เพรียงหัวหอม สาหร่ายทะเล หญ้าทะเล เป็นต้น โดยส่วนใหญ่พบอาศัยตามแหล่งอาหาร (Thompson 1964; Harris 1973; Grzimek 1984) ทากเปลือยเป็นสัตว์กินเนื้อเป็นอาหาร โดยมีการเลือกชนิดของอาหารและมีวิธีการกินที่แตกต่างกัน ตัวอย่างของอาหารทากเปลือย เช่น ฟองน้ำ ไนดาเรีย ไบรโอซัว เพรียงหัวหอม ไข่ปลา รวมถึงทากเปลือยกลุ่มอื่น บางชนิดกินเหยื่อทั้งตัว ขณะที่บางชนิดกินเฉพาะส่วนภายในของเหยื่อ จากความแตกต่างของชนิดและวิธีการกินอาหารทำให้ทากเปลือยมีลักษณะหรือแผนผังที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ ทากเปลือยส่วนใหญ่ออกหากินในเวลากลางคืน (Harris 1973; Thompson 1976; Jones et al 1998; Jensen 2000)

หากเปลี่ยนเป็นสัตว์ที่มี 2 เพศในตัวเดียวกัน (กระเทย) มีกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ทั้ง 2 เพศ (สเปิร์มและไข่) พร้อมกัน หากเปลี่ยนวางไข่โดยการสร้างเมือกที่มีความแข็งแรงห่อหุ้มไข่ที่มีลักษณะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม โดยกลุ่มของไข่มีรูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสีที่หลากหลาย เช่น มีลักษณะขดเป็นเกลียวยาว เป็นต้น พบการวางไข่บนสิ่งที่ยึดเกาะหรือบนแหล่งอาหารโดยตรง (Thompson 1976; Pawlik et al 1998) ระยะเวลาพัฒนาการของไข่แตกต่างกันตามชนิด ตั้งแต่ 2-3 วัน หรือเป็นเดือน เริ่มจากเป็นตัวอ่อนที่ดำรงชีพเป็นแพลงก์ตอน (planktotrophic larvae) พัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะ veliger ที่สามารถว่ายน้ำได้อิสระ (free swimming) และสุดท้ายเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) เพื่อลงคืบคลานบนพื้นผิวกลายเป็น หากเปลี่ยนระยะวัยอ่อนและวัยรุ่นที่มีลักษณะรูปร่างเหมือนพ่อแม่ต่อไป ทั้งนี้ ตัวอ่อนในระยะที่มีการว่ายน้ำได้อย่างอิสระสามารถแพร่กระจายในระยะทางได้ไกลมากโดยอาศัยกระแสน้ำเป็นตัวนำพา (Harris 1973; Thompson 1976)

การที่หากเปลี่ยนปราศจากเปลือกแข็งห่อหุ้มร่างกาย จึงมีพัฒนาการในการสร้างกลไกป้องกันตัวจากผู้ล่าหลายรูปแบบ เช่น การพรางตัวให้เข้ากับสถานที่หรือเลียนแบบสัตว์อื่น การเคลื่อนไหวของอวัยวะบางส่วนเพื่อสร้างความตกใจให้กับศัตรู การสร้างสารทุติยภูมิที่มีความเป็นพิษต่อศัตรู เป็นต้น (Harris 1973; Thompson 1976) สารทุติยภูมิที่หากเปลี่ยนสร้างขึ้นมีหลากหลาย (Cimino et al 2001, 2004; Wahidullah et al 2006) สารเหล่านี้มีความเป็นพิษที่ทำให้สัตว์อื่นไม่สามารถกินหากเปลี่ยนนั้นๆ เป็นอาหารได้ (Cimino and Ghiselin 1998; Cimino et al 1999) ทั้งนี้ การสร้างสารทุติยภูมิเพื่อป้องกันการถูกล่าพบในสัตว์กลุ่มอื่น โดยเฉพาะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น ฟองน้ำ เพรียงหัวหอม ไบรโอซัว ไฮดรอยด์ เป็นต้น (Fontana et al 2000, 2001; Faulkner 2002; Mayer and Gustafson 2003, 2006) สัตว์เหล่านี้ รวมถึงปะการัง และ ดอกไม้ทะเล เป็นทั้งแหล่งอาหารและให้สารทุติยภูมิดังกล่าวแก่หากเปลี่ยน (Thompson 1976; Coleman 2001; Darumas et al 2007) ปัจจุบัน สารทุติยภูมิที่พบในหากเปลี่ยนบางชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพทำให้หากเปลี่ยนเหล่านี้กลายเป็นเป้าหมายทางการแพทย์ในการนำไปสกัดเป็นตัวยาชนิดใหม่ (Fontana et al 2000; Cimino et al 2001, 2004) เช่น หากเปลี่ยน *Jorunna funebris* ที่พบกระจายทั่วไปในเขตร้อนบริเวณมหาสมุทรอินเดียและมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตก รวมถึงในน่านน้ำไทย หากเปลี่ยนชนิดนี้สามารถสร้างสารทุติยภูมิจากการกินฟองน้ำเงิน *Xestospongia* sp. เป็นอาหาร (Karuso 1987; De Silva and Gulavita 1988; Fontana et al 2000; Darumas et al 2007) สารดังกล่าว ได้แก่ สารกลุ่ม renieramycins เช่นเดียวกับที่พบในฟองน้ำเงิน *Xestospongia* sp. (Kubo et al 1989; Oku et al 2003; Amnuoypol et al 2004; Nakao et al 2004) ซึ่งสารกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด (นภาพร อินสิน และคณะ 2548; Fontana et al 2000, 2001; Suwanborirux et al 2003; Amnuoypol et al 2004; Saito et al 2004a, 2004b; Lane et al 2005, 2006; Darumas et al 2007)

หากเปลี่ยนที่พบกระจายในน่านน้ำไทยมีประมาณ 60 ชนิด (ณรงค์พล สิทธิทวีวัฒน์ 2544) โดยหากเปลี่ยน *Jorunna funebris* เป็นหากเปลี่ยนที่พบกระจายทั่วไปและเป็นกลุ่มเด่นในหลายพื้นที่ (ภัททิรา เกษมศิริ 2547; สุขนา ขวัญชัย และ วรณพ วียาญจน์ 2551) ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการศึกษาบทบาทและความสำคัญของหากเปลี่ยน *Jorunna funebris* ในระบบนิเวศ เพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลประกอบการผลิตหากเปลี่ยนดังกล่าวในระบบเลี้ยงเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป ซึ่งเป็นหนึ่งในการจัดการทรัพยากรโดยการใช้ประโยชน์ให้มีคุณค่าและยั่งยืนมากขึ้น รวมถึง สามารถลดผลกระทบที่เกิดจากการทำลาย

ทรัพยากรในธรรมชาติได้เช่นกัน โดยในการศึกษาค้างนี้ เป็นการศึกษาความสามารถในการผลิตสาร renieramycin ของทากเปลือย *Jorunna funebris* เมื่อถูกนำมาเลี้ยงในระบบเลี้ยงทั้งบนบกและในทะเล

2. วัตถุประสงค์

- 2.1 ศึกษาศักยภาพในการผลิตสาร renieramycin เมื่อนำทากเปลือย *Jorunna funebris* มาทำการเลี้ยงในระบบเลี้ยงทั้งบนบกและในทะเล
- 2.2 ร่วมสนองพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ภายใต้ โครงการ อพ.สธ. เพื่อการเรียนรู้และนำทรัพยากรไปใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

3. วิธีดำเนินการวิจัยและแผนการปฏิบัติงาน

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างทากเปลือย *Jorunna funebris* Kelaart, 1858 พร้อมทั้งฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. ที่ใช้เป็นอาหาร โดยการดำน้ำลึกด้วยอุปกรณ์ช่วยหายใจใต้น้ำแบบสกุบ้า (SCUBA Diving) พร้อมบันทึกขนาด จำนวนประชากร และข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องของทากเปลือยที่พบ เช่น พฤติกรรม ลักษณะของถิ่นอาศัย ระดับความลึก เป็นต้น จากนั้น จึงนำตัวอย่างทากเปลือย *Jorunna funebris* ทั้งหมดมาทำการปรับสภาพเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในกระเบบพลาสติกซึ่งแขวนไว้ในถังพลาสติกกลมขนาด 1 ตัน ที่ให้อากาศและให้น้ำหมุนเวียน (ระบบเปิด) ตลอดเวลา พร้อมทั้งให้อาหารวันละ 1 ครั้ง ในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการ จากนั้น จึงนำตัวอย่างทากเปลือยมาสุ่มแยกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ 1) การศึกษาการเติบโตและอัตราการรอด และ 2) การศึกษาการผลิตสารรีเนียร์มายซิน (RM: renieramycin) ทั้งนี้ แต่ละการทดลองประกอบด้วย 2 ชุดการทดลอง ได้แก่ การทดลองที่เลี้ยงตามธรรมชาติใน 1) ระบบเลี้ยงบนบก และ 2) ในทะเล

การทดลองที่ 1 ทำการเลี้ยงทากเปลือยโดยใส่ทากเปลือยแยกแต่ละตัวในภาชนะพลาสติกที่มีฝาปิดขนาดความจุ 0.25 ลิตร พร้อมเจาะช่องให้น้ำไหลผ่านได้สะดวก โดยจัดทากเปลือย 6 ตัว เป็น 1 ซ้ำ และมีทั้งหมด 10 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งนี้ ในระบบเลี้ยงบรรจุทากเปลือยแต่ละซ้ำในกระเบบพลาสติกแล้วนำไปแขวนในถังพลาสติกกลมขนาดความจุ 1 ตัน ที่ให้อากาศและให้น้ำหมุนเวียนตลอดเวลา ขณะที่ชุดการทดลองในทะเล ดำเนินการโดยนำทากเปลือยแต่ละซ้ำบรรจุในตะกร้าที่มีฝาปิดแล้วนำไปแขวนในทะเลโดยตรง ขณะที่ การทดลองที่ 2 จัดชุดการทดลองซ้ำละ 10 ตัว รวม 10 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำ รวมทากเปลือยทั้ง 10 ตัว ไว้ด้วยกันในภาชนะพลาสติกขนาดความจุประมาณ 0.50 ลิตร พร้อมเจาะช่องให้น้ำไหลผ่านได้สะดวก ทั้งนี้ ทำการทดลองในแต่ละชุดการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การประเมินผล สำหรับการทดลองที่ 1 ใช้การชั่งวัดขนาดโดยน้ำหนัก รวมถึงตรวจนับอัตราการรอดของทากเปลือยทั้งหมด ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง และทุก 2 สัปดาห์จนเสร็จสิ้นการทดลอง รวม 12 สัปดาห์ ขณะที่การทดลองที่ 2 กำหนดให้สุ่มเลือกแต่ละซ้ำในชุดการทดลองมาทำการตรวจวัดการผลิตและปริมาณสารรีเนียร์มายซินของทากเปลือยทุกตัว ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง และทุก 2 สัปดาห์จนเสร็จสิ้นการทดลอง รวม 12 สัปดาห์เช่นกัน ทั้งนี้ ทำการเปรียบเทียบผลในแต่ละช่วงเวลาและแต่ละชุดการทดลอง

อนึ่ง รายละเอียดแผนการปฏิบัติงาน และ เงื่อนไขในการศึกษาแสดงในตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

ตารางที่ 1. รายละเอียดแผนการปฏิบัติงานปีงบประมาณ 2557 (ตุลาคม 2556 – กันยายน 2557)

ช่วงเวลา	รายละเอียดการดำเนินการ	สถานที่ *
เดือนที่ 1 ตุลาคม 2556	จัดเตรียมอุปกรณ์	พธท
เดือนที่ 2 พฤศจิกายน 2556	จัดเตรียมอุปกรณ์	พธท
เดือนที่ 3 ธันวาคม 2556	สำรวจ / เก็บตัวอย่าง	แนวปะการังแหลมปู่เจ้า
เดือนที่ 4 มกราคม 2557	เก็บตัวอย่าง / ปรับสภาพ	แนวปะการังแหลมปู่เจ้า
เดือนที่ 5 กุมภาพันธ์ 2557	ปรับสภาพ	พธท
เดือนที่ 6 มีนาคม 2557	เริ่มการทดลอง เดือนที่ 1	พธท / แนวปะการังเขาหมาจอ
เดือนที่ 7 เมษายน 2557	เดือนที่ 2	พธท / แนวปะการังเขาหมาจอ
เดือนที่ 8 พฤษภาคม 2557	เดือนที่ 3	พธท / แนวปะการังเขาหมาจอ
เดือนที่ 9 มิถุนายน 2557	จัดเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ การผลิต / ปริมาณสาร RM	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
เดือนที่ 10 กรกฎาคม 2557	วิเคราะห์ปริมาณสาร RM	บริษัทวิเคราะห์ตัวอย่าง
เดือนที่ 11 สิงหาคม 2557	วิเคราะห์ข้อมูล	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
เดือนที่ 12 กันยายน 2557	จัดทำรายงาน	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

หมายเหตุ: * พธท: พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

ตารางที่ 2. เงื่อนไขการศึกษาปีงบประมาณ 2557 (ตุลาคม 2556 – กันยายน 2557)

หัวข้อ	รายละเอียด
สัตว์ทดลอง	ทาเกเปล็อย <i>Jorunna funebris</i> Kelaart, 1858
อาหารที่ใช้ในการทดลอง	ฟองน้ำสีน้ำเงิน <i>Xestospongia</i> sp.
การทดลองที่ 1	
ชุดการทดลอง	2 ชุด 1) ระบบเลี้ยง และ 2) ในทะเล
จำนวนซ้ำ	10 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ตัว ซึ่งแยกแต่ละตัวในภาชนะพลาสติกมีฝาปิด ขนาด 0.25 ลิตร
วิธีการทดลอง	1) ชุดการทดลองในระบบเลี้ยง แต่ละซ้ำบรรจุในกระบะพลาสติกแล้วนำไปแขวนในถังพลาสติกกลม ขนาดปริมาตรน้ำ 1 ตัน
	2) ชุดการทดลองในทะเล แต่ละซ้ำบรรจุในตะกร้าพลาสติกที่มีฝาปิดแล้วนำไปแขวนในทะเล
ระยะเวลาในการเก็บข้อมูล/ตัวอย่างเพื่อการประเมิน	ทุก 2 เดือน และ เมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง โดยประเมินทุกตัว
หัวข้อการประเมิน	การเติบโตโดยความยาวเหยียด และ อัตรารอด
การทดลองที่ 2	
ชุดการทดลอง	2 ชุด 1) ระบบเลี้ยง และ 2) ในทะเล
จำนวนซ้ำ	10 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว รวมบรรจุทั้ง 10 ตัวด้วยกันในภาชนะพลาสติกมีฝาปิด ขนาด 0.50 ลิตร
วิธีการทดลอง	1) ชุดการทดลองในระบบเลี้ยง แต่ละซ้ำบรรจุในกระบะพลาสติกแล้วนำไปแขวนในถังพลาสติกกลม ขนาดปริมาตรน้ำ 1 ตัน
	2) ชุดการทดลองในทะเล แต่ละซ้ำบรรจุในตะกร้าพลาสติกที่มีฝาปิดแล้วนำไปแขวนในทะเล
ระยะเวลาในการเก็บข้อมูล/ตัวอย่างเพื่อการประเมิน	ทุก 2 เดือน และ เมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง โดยใช้ทาเกเปล็อยทุกตัวที่ สุ่มเลือกจากแต่ละซ้ำมาทำการวิเคราะห์การผลิต/สร้างสาร RM
หัวข้อการประเมิน	การผลิตสาร และ ปริมาณของสารที่ผลิต

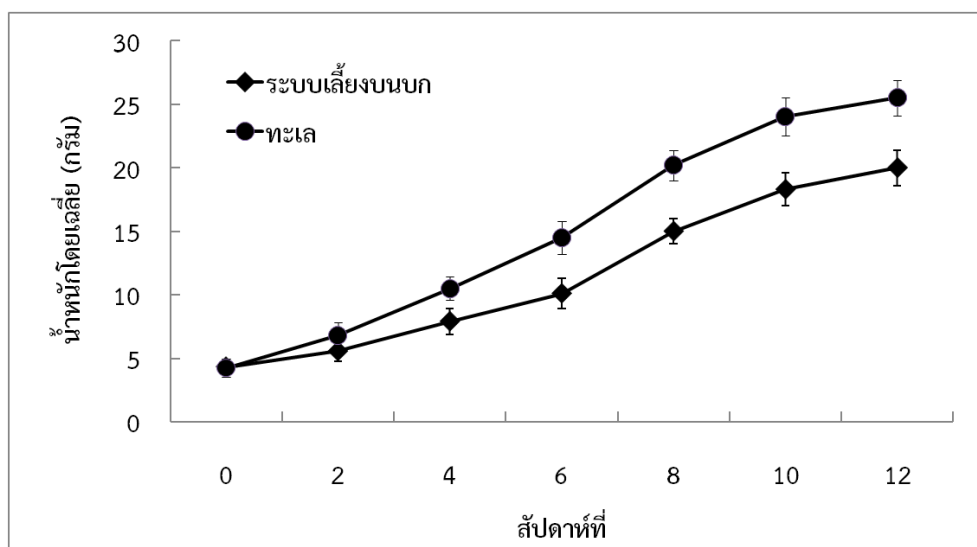
4. สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล

- 4.1 สถานที่ศึกษา: เก็บตัวอย่างทากเปลือย *Jorunna funebris* และฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. จากแนวปะการังบริเวณชายฝั่งแหลมปู่เจ้า อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี
- 4.2 สถานที่ทดลอง: ศึกษาภายในระบบเลี้ยงดำเนินการ ณ พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย ขณะที่ การศึกษาในทะเล ดำเนินการ ณ บริเวณชายฝั่งทะเลเขาหมาจ้อ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี
- 4.3 สถานที่วิเคราะห์ข้อมูลและอื่นๆ: ณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

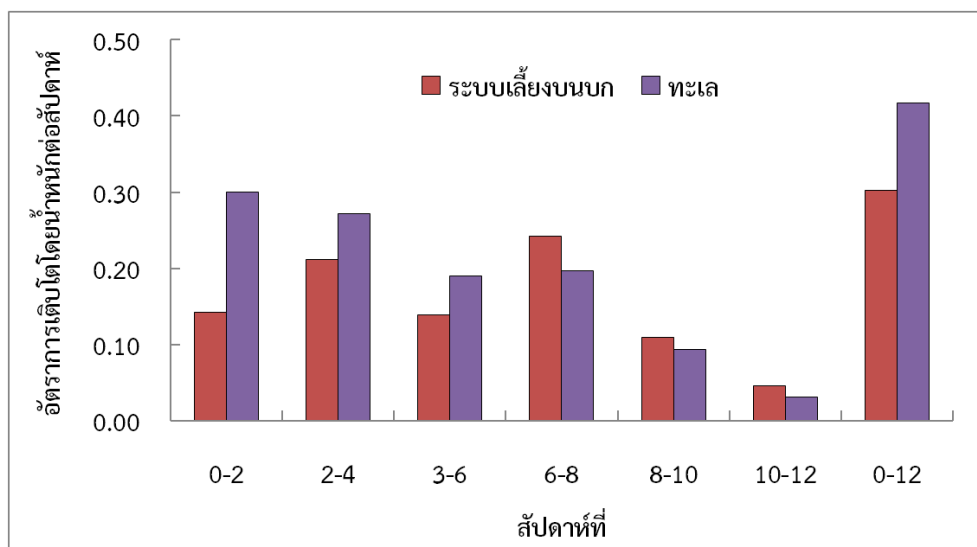
5. ผลการดำเนินงาน

ผลการศึกษาการเติบโตของทากเปลือย *Jorunna funebris* เมื่อนำมาเลี้ยงในระบบเลี้ยงและในทะเลเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า มีการเติบโตเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยทากเปลือยที่เลี้ยงในทะเลมีการเติบโตที่สูงกว่าเลี้ยงในระบบเลี้ยงอย่างชัดเจน (รูปที่ 1) อย่างไรก็ตาม สำหรับอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักต่อสัปดาห์ในแต่ละช่วงการทดลองพบว่า ในช่วง 6 สัปดาห์แรก ทากเปลือยที่เลี้ยงในทะเลมีอัตราการเติบโตที่สูงกว่าในระบบเลี้ยง ขณะที่ในช่วง 6 สัปดาห์หลัง ทากเปลือยในระบบเลี้ยงมีอัตราการเติบโตที่สูงกว่าเพียงเล็กน้อย และในภาพรวมตลอดการทดลอง ทากเปลือยที่เลี้ยงในทะเลมีอัตราการเติบโตที่สูงกว่าในระบบเลี้ยงเช่นกัน (รูปที่ 2) ทั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างของอัตราการรอดระหว่างชุดการทดลองในระบบเลี้ยงและในทะเล (รูปที่ 3)

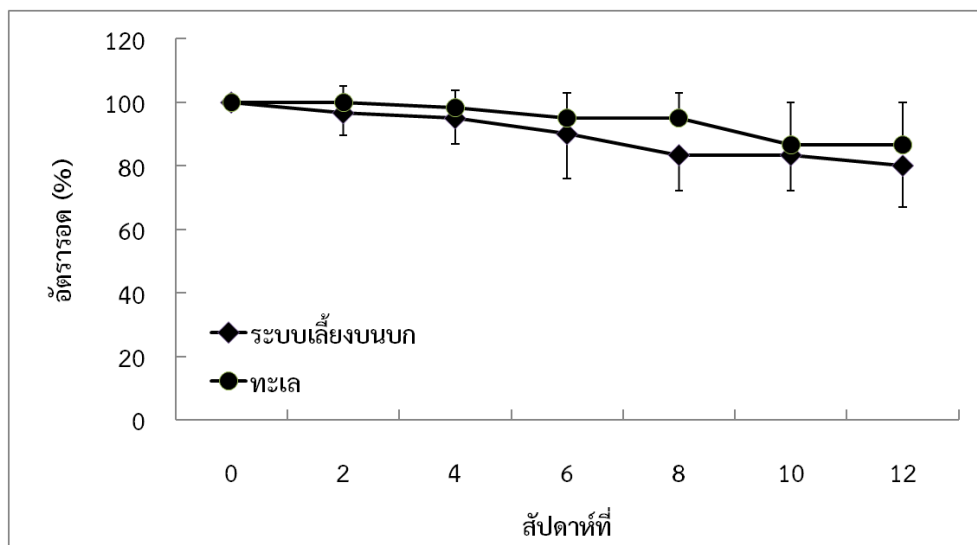
สำหรับผลการผลิตและปริมาณสารรีเนียร์มายซินที่ได้จากการเลี้ยงทากเปลือยในระบบเลี้ยงและในทะเล แสดงในรูปที่ 4 และ 5 พบว่า ทากเปลือยที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงมีแนวโน้มในการผลิตสารรีเนียร์มายซินลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ทั้งจำนวนตัวที่พบการผลิตสาร (รูปที่ 4) และปริมาณในการผลิต (รูปที่ 5) ขณะที่ ทากเปลือยที่นำมาเลี้ยงในทะเลไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง (รูปที่ 4 และ 5)



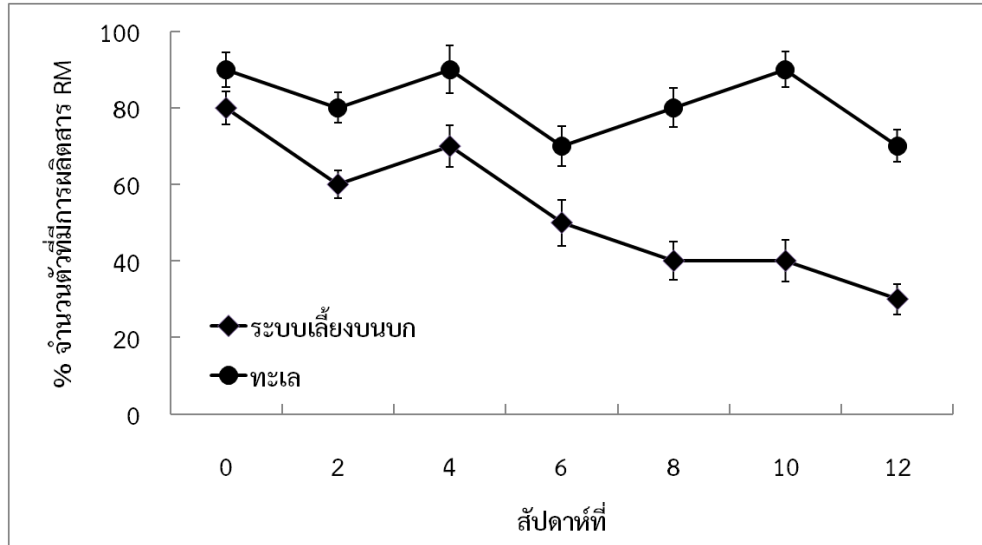
รูปที่ 1. การเติบโตโดยน้ำหนักของทากเปลือย *Jorunna funebris* ตลอดการทดลอง 12 สัปดาห์



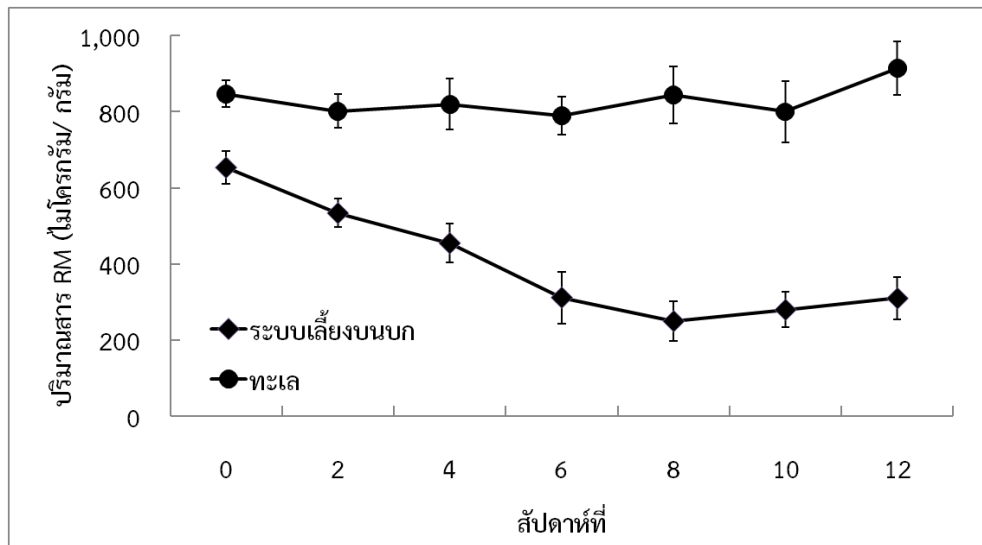
รูปที่ 2. อัตราการเติบโตโดยน้ำหนักต่อสัปดาห์ของหากเปลือย *Jorunna funibris* ตลอดการทดลอง 12 สัปดาห์



รูปที่ 3. อัตรารอดของหากเปลือย *Jorunna funibris* ตลอดการทดลอง 12 สัปดาห์



รูปที่ 4. เปอร์เซนต์ของจำนวนหาคเปลือย *Jorunna funibris* ที่พบว่าการผลิตสารรีเนียร์มายซิน ในช่วงเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์



รูปที่ 5. ปริมาณสารรีเนียร์มายซินที่มีการผลิตโดยหาคเปลือย *Jorunna funibris* ในช่วงเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์

6. สรุปและวิจารณ์ผล

ผลของการเติบโตและอัตราการรอดของทากเปลือย *Jorunna funebris* จากการศึกษาครั้งนี้บ่งบอกถึงความสามารถในการเลี้ยงทากเปลือยดังกล่าวได้ในระบบเลี้ยงบนบกที่พบอัตราการรอดไม่แตกต่างกันทั้งในระบบเลี้ยงและในทะเล ขณะที่ผลของการเติบโตพบแนวโน้มที่ทากเปลือยในระบบเลี้ยงค่อนข้างต่ำกว่าทากเปลือยที่เลี้ยงในทะเลตั้งแต่ระยะแรกของการทดลอง อย่างไรก็ตาม ทากเปลือยที่มีน้ำหนักโดยเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลองประมาณ 4.2 – 4.3 กรัม มีการพัฒนาเป็นทากเปลือยขนาดมากกว่า 20 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 โดยมีอัตราการเติบโตของน้ำหนักโดยเฉลี่ยต่อสัปดาห์ 0.42 ในทากเปลือยที่เลี้ยงในทะเล และ 0.30 ในระบบเลี้ยงบนบกตามลำดับ ซึ่งความแตกต่างนี้ค่อนข้างชัดเจนในช่วง 6 สัปดาห์แรก

เมื่อพิจารณาถึงทากเปลือยที่มีความสามารถในการผลิตสารรีเนียร์มายซินแล้วพบว่า ทั้งจำนวนตัวทากเปลือยที่มีความสามารถในการผลิตสารดังกล่าว รวมถึง ปริมาณที่สามารถผลิตได้ มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองในระบบเลี้ยงและในทะเล โดยชุดการทดลองทากเปลือยในระบบเลี้ยงมีแนวโน้มที่ประสิทธิภาพการผลิตสารดังกล่าวลดลง พร้อมมีจำนวนตัวทากเปลือยที่ไม่สามารถผลิตสารได้เพิ่มมากขึ้น ขณะที่ทากเปลือยที่อนุบาลในทะเล ไม่พบความแตกต่างในปริมาณสารและจำนวนตัวที่ผลิตในช่วงเวลาการทดลอง ประสิทธิภาพการสร้างสารรีเนียร์มายซินที่ลดลงอาจเป็นผลมาจากการที่ทากเปลือยอาศัยหรือถูกเลี้ยงในสถานที่ที่มีความปลอดภัย ดังเช่น ในระบบเลี้ยงบนบก ซึ่งปราศจากศัตรูหรือผู้แข่งขันที่เข้ามาแย่งแย่งเบียดเบียน อื่นๆ ทำให้ทากเปลือย *Jorunna funebris* อาจไม่มีความจำเป็นในการผลิตสารดังกล่าว ซึ่งมีคุณสมบัติในการป้องกันอันตรายจากสิ่งมีชีวิตอื่นภายนอกที่มนุษย์สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพทางการแพทย์หรือเภสัชกรรม ขณะที่ทากเปลือยที่นำไปอนุบาลในทะเลสามารถผลิตสารดังกล่าวได้ โดยที่ไม่ปรากฏแนวโน้มการลดลงของสาร ซึ่งแตกต่างจากการอนุบาลในทะเลจากการศึกษาบางครั้งที่ผ่านมามีปริมาณการผลิตสารดังกล่าวลดลง ซึ่งอาจเป็นผลจากวิธีที่ใช้ในการอนุบาลในทะเลที่ใกล้เคียงธรรมชาติมากที่สุดที่ทำให้ทากเปลือย *Jorunna funebris* ยังคงความจำเป็นในการสร้างสารรีเนียร์มายซินเพื่อการปกป้องตนเองต่อไป

7. เอกสารอ้างอิง

- ณรงค์พล ลิทธิทวีพัฒน์. 2544. การสำรวจชนิดและการแพร่กระจายของทากเปลือยในแนวปะการังของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 250 หน้า.
- นำพร อินสิน, พงศ์พโยม พูลรัตน์, ลัดดา เตชะวิริยะทวีสิน. 2548. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่ม บิสเตตราไฮโดรไอโซควิโนลินแอลคาลอยด์จากทากเปลือย *Jorunna funebris* ด้วย HPLC. โครงการปริญญาโท. คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 36 หน้า.
- ภัททิรา เกษมศิริ. 2547. การศึกษาวิจัยปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการวางไข่และการพัฒนาการของตัวอ่อนทากเปลือย : กรณีศึกษาจากทากเปลือยบริเวณเกาะหม้อในและเกาะหม้อนอก หมู่เกาะช้าง จังหวัดตราด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 181 หน้า.
- สุชนา ขวัญชัย และ วรณพ วิทยาญจน์. 2551. ทากเปลือย. ใน พจนา บุญยเนตร (บก), คู่มือทรัพยากรชีวภาพหมู่เกาะมัน. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ. 142-147.
- Amnuoppol, S., Suwanborirux, K., Pummangura, S., Kubo, A., Tanaka, C., and Saito, N. 2004. Chemistry of renieramycins. Part 5. Structure elucidation of renieramycin-type derivatives O, Q, R, and S from Thai marine sponge *Xestospongia* species pretreated with potassium cyanide. *J. Nat. Prod.* 67: 1023-1028.
- Behrens, D.W. 1991. Pacific Coast Nudibranchs : A Guide to the Opisthobranchs Alaska to Baja California. Sea Challengers, Monterey, California. 106 pp.
- Cimino, G., Ciavatta, M.L., Fontana, A., and Gavagnin, M. 2001. Metabolites of marine opisthobranchs: Chemistry and biological activity. In: Tringali, C. (ed.), Bioactive compounds from natural sources – Isolation, characterization and biological properties. Taylor & Francis, London, pp. 579–637.
- Cimino, G., Fontana, A., Cutignano, A., and Gavagnin, M. 2004. Biosynthesis in opisthobranch molluscs: General outline in the light of recent use of stable isotopes. *Phytochemistry Reviews* 3: 285–307.
- Cimino, G., Fontana, A., and Gavagnin, M. 1999. Marine opisthobranch molluscs: Chemistry and ecology in sacoglossan and dorids. *Current Organic Chemistry* 3: 327–372.
- Cimino, G. and Ghiselin, M.T. 1998. Chemical defense and evolution in the Sacoglossa (Mollusca: Gastropoda: Opisthobranchia). *Chemoecology* 8: 51–60.
- Clark, K.B. 1975. Nudibranch life cycles in the Northwest Atlantic and their relationship to the ecology of fouling communities. *Helgolander wiss Meeresunters* 27: 28-69.
- Cobb, G. and Willan, R.C. 2006. Undersea jewels. A colour guide to nudibranchs. Canberra, Australia: Australian Biological Resources Study, 310 pp.
- Coleman, N. 2001. 1001 Nudibranchs : Catalogue of Indo-Pacific Sea Slugs. Agency Limited. 144 pp.

- Darumas, U., Chavanich, S., and Suwanborirux, K. 2007. Distribution patterns of the renieramycin-producing sponge *Xestospongia* sp. and its association with other reef organisms in the Gulf of Thailand. *Zoological Studies* 46: 695-704.
- Debelius, H. and Kuter, R. 2007. Nudibranchs of the world. Frankfurt, Germany: IKAN-Unterwasserarchie, 360 pp.
- De Silva, E.D. and Gulavita, N.K. 1988. Isoquinolinequinones from a marine sponge *Xestospongia* sp. and the nudibranch *Jorunna funebris*. IUPAC, International Symposium on Chemical Natural Products, 16, 610.
- Faulkner, D.J. 2002. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 19; 1-48.
- Fontana, A., Cavaliere, P., Wahidullah, S., Naik, C.G., and Cimino, G. 2000. A new antitumor isoquinoline alkaloid from the marine nudibranch *Jorunna funebris*. *Tetrahedron* 56: 7305-7308.
- Fontana, A., Ciavatta, M., D'Souza, L., Mollo, E., Naik, C.G., Parameswaran, P.S., Wahidulla, S., and Cimino, G. 2001. Selected chemo-ecological studies of marine opisthobranchs from Indian coasts. *J. Indian Inst. Sci.* 81: 403-415.
- Gosliner, T.M. and Draheini, R. 1996. Indo-Pacific opisthobranch gastropod biogeography: How do we know what we don't know? *American Malacological Bulletin* 12: 37-43.
- Grzimek, B. 1984. Grzimek's Animal Life Encyclopedia. Vol. 3. Mollusks and Echinoderms. Van Nostrand Reinhold, London. 138 pp.
- Harris, L.G. 1973. Nudibranch associations. In: Cheng, T.C. (ed.), Current Topics in Comparative Pathobiology, vol. 2. Academic Press, New York, pp. 213-315.
- Jensen, K.R. 2000. An outline of the systematic and classification of Nudibranchia (Gastropoda, Opisthobranchia). *Phuket Marine Biological Center Special Publication* 21: 431-446.
- Jones, R.E., Beveridge, I., Cannon, L.R.G., Harvey, M.S., Nielsen, E.S., Ponder, W.F., and Just, J. 1998. Mollusca : The Southern Synthesis Fauna of Australia Part B. Vol. 5. CSIRO Publishing, Melbourne.
- Karuso, P. 1987. Chemical ecology of the nudibranchs. In: Schueur, P.J. (ed.), Bioorganic Marine Chemistry, vol. 1. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 31-60.
- Kubo, A., Kitahara, Y., and Nakahara, S. 1989. Synthesis of new isoguinolinequinone metabolites of a marine sponge, *Xestospongia* sp., and the nudibranch, *Jorunna funebris*. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 1384-1386.
- Lane, J.W., Chen, Y., and Williams, R.M. 2005. Asymmetric total syntheses of (-)-jorumycin, (-)-renieramycin G, 3-epi-jorumycin, and 3-epi-renieramycin G. *J. Am. Chem. Soc.* 127: 12684-12690.
- Lane, J.W., Estevez, A., Mortara, K., Callan, O., Spencerc, J.R., and Williams, R.M. 2006. Antitumor activity of tetrahydroisoquinoline analogues 3-epi-jorumycin and 3-epi-renieramycin G. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 16: 3180-3183.

- Mayer, A.M.S. and Gustafson, K.R. 2003. Marine pharmacology in 2000 : Antitumor and cytotoxic compounds. *Int. J. Cancer* 105: 291–299.
- Mayer, A.M.S. and Gustafson, K.R. 2006. Marine pharmacology in 2003 - 2004 : Antitumor and cytotoxic compounds. *European Journal of Cancer* 42: 2241-2270.
- Nakao, Y., Shiroya, T., Murayama, S., Matsunaga, S., Goto, Y., Matsumoto, Y., and Fusetani, N. 2004. Identification of renieramycin A as an antileishmanial substance in a marine sponge *Neopetrosia* sp. *Marine Drugs* 2: 55-62.
- Nybakken, J. 1978. Abundance, diversity, and temporal variability in a California intertidal nudibranch assemblage. *Marine Biology* 45: 129-146.
- Oku, N., Matsunaga, S., van Soest, R.W.M., and Fusetani, N. 2003. Renieramycin J, a highly cytotoxic tetrahydroisoquinoline alkaloid, from a Marine Sponge *Neopetrosia* sp. *J. Nat. Prod.* 66: 1136-1139.
- Pawlik, J.R., Kernan, M.R., Molinski, T.F., Harper, M.K., and Faulkner, J. 1998. Defensive chemicals of spanish dancer nudibranch *Hexabranchus sanguineus* and its egg ribbons : Macrolides derived from a sponge diet. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 119: 99-109.
- Saito, N., Tanaka, C., Koizumi, Y., Suwanborirux, K., Amnuoypol, S., Pummangura, S., and Kubo, A. 2004a. Chemistry of renieramycin M. Part 6. Transformation of renieramycin M into jorumycin and renieramycin J including oxidative degradation products, mimosamycin, renieone, and renierol acetate. *Tetrahedron* 60: 3873-3881.
- Saito, N., Tanaka, C., Satomi, T., and Oyama, C. 2004b. Chemistry of renieramycins. Part 4. Synthesis of a simple natural marine product, 6-hydroxy-7-methoxyisoquinolinemethanol. *Chem. Pharm. Bull.* 52: 282-286.
- Suwanborirux, K., Amnuoypol, S., Plubrukarn, A., Pummangura, S., Kubo, A., Tanaka, C., and Saito, N. 2003. Chemistry of renieramycin M. Part 3. Isolation and structure of stabilized renieramycin type derivatives processing antitumor activity from Thai sponge *Xestospongia* species, pretreated with potassium cyanide. *J. Nat. Prod.* 66: 1441-1446.
- Thompson, T.E. 1964. Grazing and the life cycles of British nudibranchs. *British Ecological Society Symposium* 4: 275-297.
- Thompson, T.E. 1976. Biology of Opisthobranch Molluscs, vol. 1. The Ray Society, London, U.K.. 207 pp.
- Wahidullah Y.W.G., Fakhr, I.M.I. and Mollo E. 2006. Chemical diversity in Opisthobranch molluscs from scarcely investigated Indo-Pacific areas. In: Cimino, G. and Gavagnin, M. (eds.), Progress in Molecular and Subcellular Biology Subseries Marine Molecular Biotechnology: Molluscs. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 176-198.