รายงานผลการดำเนินงาน

ปีงบประมาณ 2558

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

บทบาทและความสำคัญของทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบนิเวศ-4: ความสัมพันธ์ของอาหารที่มีต่อการผลิตสาร renieramycin

ผู้รับผิดชอบโครงการ
รองศาสตราจารย์ ดร.สุชนา ชวนิชย์

รายงานวิจัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2558

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

บทบาทและความสำคัญของทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบนิเวศ – 4: ความสัมพันธ์ของอาหารที่มีต่อการผลิตสาร renieramycin

Important roles of the nudibranch, *Jorunna funebris*, in the ecosystems – 4: Relationship between food and renieramycin producing

รองศาสตราจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์
รองศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิยกาญจน์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตุลาคม 2558

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2558 คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และนิสิตกลุ่มการวิจัยชีววิทยาปะการัง รวมถึง ผู้สนับสนุนงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานทั้งหมดเป็นอย่างดีตลอดมา

บทคัดย่อ

ศึกษาความสัมพันธ์ของอาหารที่มีต่อการผลิตสาร renieramycin เมื่อทำการเลี้ยงทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบเลี้ยงทั้งบนบกและในทะเล โดยทำการประเมินและเปรียบเทียบการเติบโต อัตรารอด รวมถึง ปริมาณการสะสมของสาร renieramycin ในทากเปลือย พร้อมทั้งเปรียบเทียบระหว่างชุดการศึกษาในระบบเลี้ยงบนบกและในทะเลธรรมชาติ จากการทดลองพบว่า ทากเปลือยเลือกกินแต่ฟองน้ำชนิด *Xestospongia* และไม่มีฟองน้ำชนิดอื่นที่ทากเปลือยกิน และจากการนำตัวอย่างทากเปลือยมาทำการเลี้ยงในธรรมชาติเปรียบเทียบกับการเลี้ยงในระบบเลี้ยงบนบก ผลการศึกษาพบว่า อัตราการเติบโตและอัตราการรอดของทากเปลือยต่างกันในชุดการทดลองที่ต่างกัน โดยทากเปลือยที่ทำการเลี้ยงในธรรมชาติมีอัตราการเติบโตทั้งความยาวและน้ำหนักและอัตราการรอดที่สูงกว่าทากเปลือยที่นำมาเลี้ยงในระบบเลี้ยง นอกจากนี้ทากเปลือยที่ถูกเลี้ยงในธรรมชาติมีการผลิตสาร renieramycin M ที่สูงกว่า ทากเปลือยที่ถูกเลี้ยงในระบบเลี้ยง ดังนั้น ในการเลี้ยงหรืออนุบาลทากเปลือยเพื่อนำสารทุติยภูมิหรือสาร renieramysin มาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไปนั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเลี้ยงหรืออนุบาลทากเปลือยในทะเลเพื่อให้ทากเปลือยสามารถผลิตสารดังกล่าวได้ในปริมาณมาก

คำสำคัญ: ทากเปลือย สารทุติยภูมิ renieramysin ฟองน้ำ อาหาร การผลิต

Abstract

Food preference and renieramycin production of the nudibranch, *Jorunna funebris* were investigated. The nudibranchs were raised either in the land-based system or in the sea. The growth rates, survival rates, and the renieramycin productions of the nudibanchs were compared between the two treatments. The results showed that *J. funebris* only consumed the blue sponge, *Xestospongia.* In addition, the nudibranchs raised in the sea had higher growth and survival rates than that of in the land-based system. Nudibranchs, which were raised in the sea also produced higher amounts of renieramycin M concentrations. Thus, in order to have suitable amounts of the renieramycin for future medical purposes, it is necessary to raise or culture the nudibranchs in the sea.

Keywords: nudibranch, secondary methabolite, renieramysin, sponge, food, production

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทคัดย่อภาษาไทย	Ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	Iii
สารบัญเรื่อง	iv
สารบัญตาราง	V
สารบัญรูป	vi
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
วิธีดำเนินการวิจัยและแผนการปฏิบัติงาน	3
สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล	6
ผลการดำเนินงาน	6
สรุปและวิจารณ์ผล	9
เอกสารอ้างอิง	9

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1. รายละเอียดการดำเนินงานในช่วง 12 เดือน (ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558) 6

ตารางที่ 2. การเลือกกินอาหารของทากเปลือย *Jorunna funebris* 7

ตารางที่ 3. อัตราการเติบโตและอัตรารอดของทากเปลือย *Jorunna funebris* เปรียบเทียบการเลี้ยงในธรรมชาติและระบบเลี้ยงในช่วง 20 สัปดาห์ 8

ตารางที่ 4. ปริมาณการสะสมของสาร renieramycin M ในทากเปลือย *Jorunna funebris* เปรียบเทียบการเลี้ยงในธรรมชาติและระบบเลี้ยงในช่วง 20 สัปดาห์ 9

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1. ทากเปลือย *Jorunna funebris* (Kelaart, 1858) กับฟองน้ำ *Xestospongia* sp.	4
รูปที่ 2. ขั้นตอนการสกัดสาร renieramycin จากทากเปลือย *Jorunna funebris*	5
รูปที่ 3. การทดลองการให้อาหาร 4 ชนิด แก่ทากเปลือย *Jorunna funibris*	7

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
บทบาทและความสำคัญของทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบนิเวศ – 4: ความสัมพันธ์ของอาหารที่มีต่อการผลิตสาร renieramycin

Plant Genetic Conservation Project under the Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn – Chulalongkorn University
Important roles of the nudibranch, *Jorunna funebris*, in the ecosystems –4 : Relationship between food and renieramycin producing

สุชนา ชวนิชย์ และ วรณพ วิยกาญจน์

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) สักษณะทั่วไปเป็นสัตว์ที่มีเปลือกในระยะแรกของการเป็นตัวอ่อน และทำการทิ้งเปลือกภายหลังที่ฟักออกจากไข่ ส่วนของลำตัวไม่แบ่งเป็นปล้อง มีสมมาตรซ้ายขวา ประกอบด้วยส่วนหัว ส่วนเท้า แมนเติล และอวัยวะภายใน (Harris 1973; Thompson 1976; Behrens 1991)

ทากเปลือยอาศัยอยู่ในทะเล ตั้งแต่ชายฝั่งจนถึงทะเลลึก เขตร้อนจนถึงเขตหนาว (Clark 1975; Nybakken 1978; Gosliner and Drahein 1996; Cobb and Willan 2006; Debelius and Kuiter 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 จากความแตกต่างของชนิดและ

วิธีการกินอาหารทำให้ทากเปลือยมีลักษณะหรือแผงฟันที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ ทากเปลือยส่วนใหญ่ออกหากินในเวลากลางคืน (Harris 1973; Thompson 1976; Jones et al 1998; Jensen 2000)

ทากเปลือยเป็นสัตว์ที่มี 2 เพศในตัวเดียวกัน (กระเทย) มีกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ทั้ง 2 เพศ (สเปิร์มและไข่) พร้อมกัน ทากเปลือยวางไข่โดยการสร้างเมือกที่มีความแข็งแรงห่อหุ้มไข่ที่มีลักษณะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 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) เพื่อลงคืบคลานบนพื้นผิว กลายเป็นทากเปลือยระยะวัยอ่อนและวัยรุ่นที่มีลักษณะรูปร่างเหมือนพ่อแม่ต่อไป ทั้งนี้ ตัวอ่อนในระยะที่มีการว่ายน้ำได้อย่างอิสระสามารถแพร่กระจายเป็นระยะทางได้ไกลมากโดยอาศัยกระแสน้ำเป็นตัวนำพา (Harris 1973; Thompson 1976)

การที่ทากเปลือยปราศจากเปลือกแข็งห่อหุ้มร่างกาย จึงมีพัฒนาการในการสร้างกลไกป้องกันตัวจากผู้ล่าหลายรูปแบบ เช่น การพรางตัวให้เข้ากับสถานที่หรือเลียนแบบสัตว์อื่น การเคลื่อนไหวของอวัยวะบางส่วนเพื่อสร้างความตกใจให้กับศัตรู การสร้างสารทุติยภูมิที่มีความเป็นพิษต่อศัตรู เป็นต้น (Harris 1973; Thompson 1976) สารทุติยภูมิที่ทากเปลือยสร้างขึ้นมีหลากหลาย (Cimino et al 2001, 2004; Wahidullah et al 2006) สารเหล่านี้มีความเป็นพิษที่ทำให้สัตว์อื่นไม่สามารถกินทากเปลือยนั้นๆ 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 รวมถึง ปะการัง และ ดอกไม้ทะเล เป็นทั้งแหล่งอาหารและให้สารทุติยภูมิดังกล่าวแก่ทากเปลือย (Thompson 1976; Coleman 2001; Darumas et al 2007) ปัจจุบัน สารทุติยภูมิที่พบในทากเปลือยบางชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ทำให้ทากเปลือยเหล่านี้กลายเป็นเป้าหมายทางการแพทย์ในการนำไปสกัดเป็นตัวยาชนิดใหม่ (Fontana et al 2000; Cimino et al 2001, 2004) เช่น ทากเปลือย *Jorunna funebris* ที่พบกระจายทั่วไปในเขตร้อน บริเวณมหาสมุทรอินเดียและมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตก รวมถึงในน่านน้ำไทย ทากเปลือยชนิดนี้สามารถสร้างสารทุติยภูมิจากการกินฟองสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. เป็นอาหาร (Karuso 1987; De Silva and Gulavita 1988; Fontana et al 2000; Darumas et al 2007) สารดังกล่าว ได้แก่ สารกลุ่ม renieramycins เช่นเดียวกับที่พบในฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. (Kubo et al 1989; Oku et al 2003; Amnuoypol et al 2004; Nakao et al 2004) ซึ่งสารกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด (นำพร 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)

ทากเปลือยที่พบกระจายในน่านน้ำไทยมีประมาณ 60 ชนิด (ณรงค์พล สิทธิทวีพัฒน์ 2544) โดยทากเปลือย *Jorunna funebris* เป็นทากเปลือยที่พบกระจายทั่วไปและเป็นกลุ่มเด่นในหลายพื้นที่ (ภัททิรา เกษมศิริ 2547; สุชนา ชวนิชย์ และ วรณพ วิยกาญจน์ 2551) ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการศึกษาบทบาทและความสำคัญของทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบนิเวศ เพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลประกอบการผลิตทากเปลือยดังกล่าวในระบบเลี้ยงเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป ซึ่งเป็นหนึ่งในการจัดการทรัพยากรโดยการใช้ประโยชน์ให้มีคุณค่าและยั่งยืนมากขึ้น รวมถึง สามารถลดผลกระทบที่เกิดจากการทำลายทรัพยากรในธรรมชาติได้เช่นกัน โดยในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาความสามารถในการผลิตสาร renieramycin ของทากเปลือย *Jorunna funebris* เมื่อถูกนำมาเลี้ยงในระบบเลี้ยงทั้งบนบกและในทะเล

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

2.1 ศึกษาศักยภาพความสัมพันธ์ของอาหารที่มีต่อการผลิตสาร renieramycin เมื่อทำการเลี้ยงทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบเลี้ยงทั้งบนบกและในทะเล

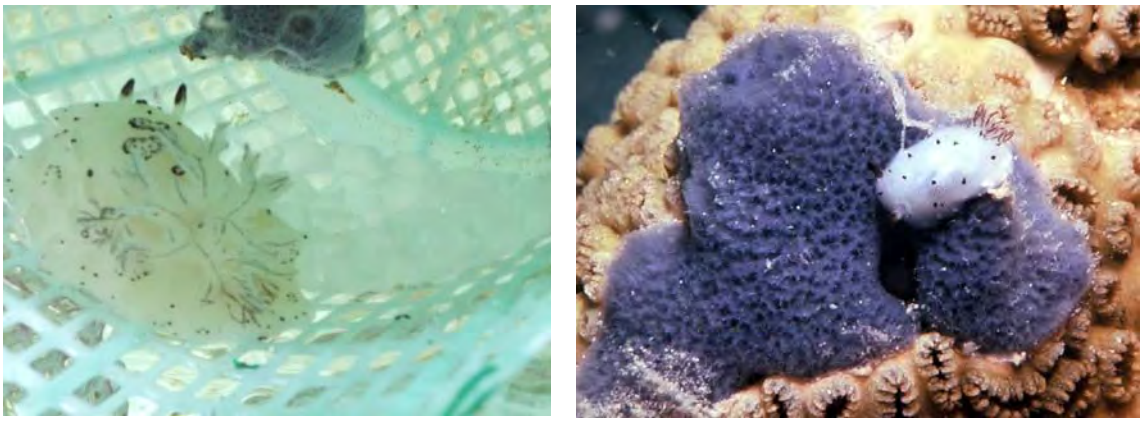
2.2 ร่วมสนองพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ภายใต้ โครงการ อพ.สธ. เพื่อการเรียนรู้และนำทรัพยากรไปใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

3. วิธีดำเนินการวิจัยและแผนการปฏิบัติงาน

เก็บตัวอย่างทากเปลือย *Jorunna funebris* Kelaart, 1858 พร้อมทั้งอาหาร เช่น ฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. โดยการดำน้ำลึกด้วยอุปกรณ์ช่วยหายใจใต้น้ำแบบสกูบ้าในแนวปะการังบริเวณหมู่เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ในความดูแลของกองทัพเรือที่ร่วมสนองพระราชดำริ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ – กองทัพเรือ และนำมาเลี้ยงตะกร้าที่แขวนในทะเลบริเวณชายฝั่งทะเล หรือในระบบเลี้ยงของสัตว์ทะเลของ พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย จังหวัดชลบุรี

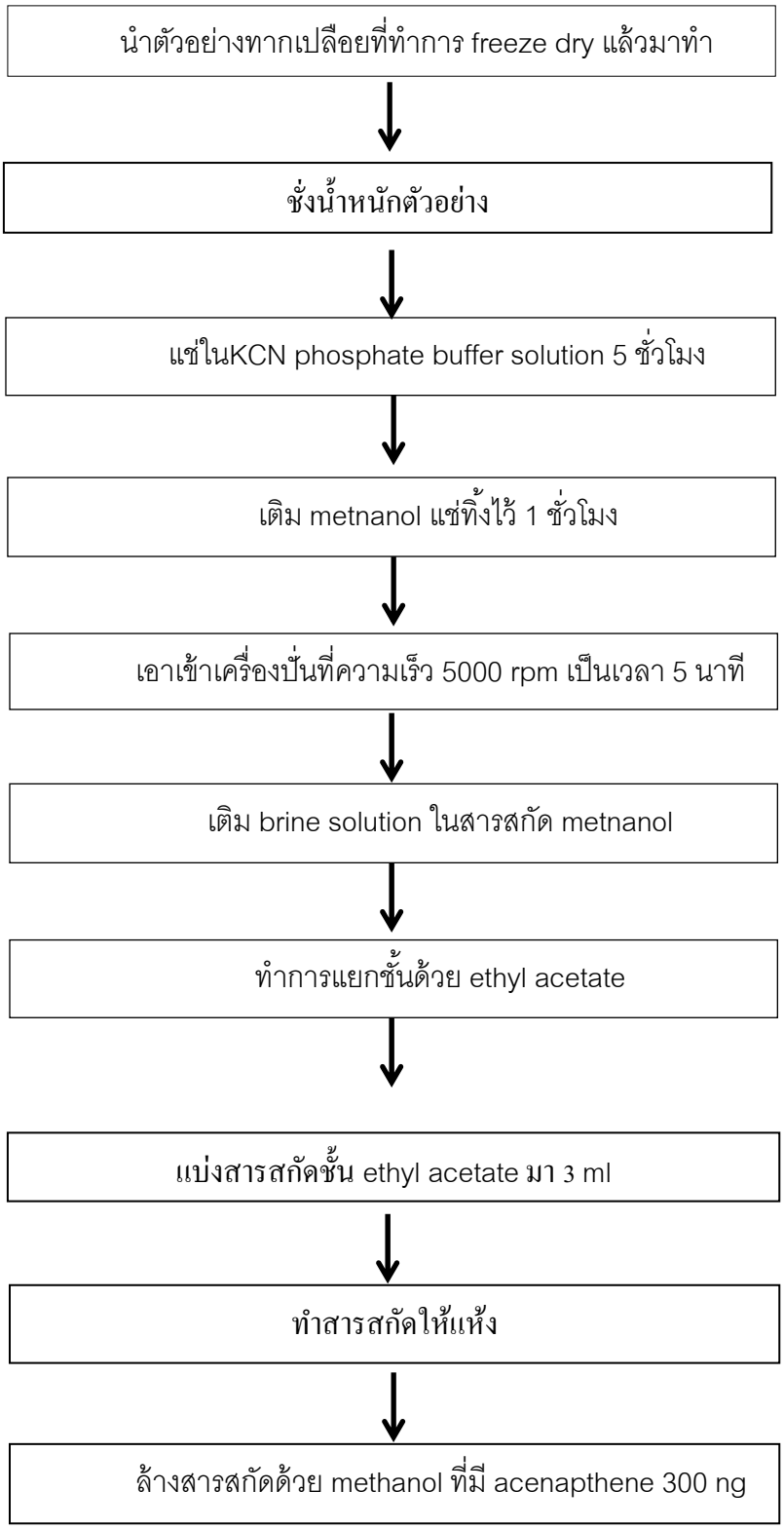
นำตัวอย่างทากเปลือยมาสุ่มแยกชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองที่ 1 ทำการเลี้ยงในธรรมชาติ โดยใส่ทากเปลือยในตะกร้าแขวนในทะเล ขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 ทำการเลี้ยงในระบบเลี้ยงบนบก โดยใส่ทากเปลือยในภาชนะพลาสติกที่อยู่ในตู้กระจกที่ให้อากาศและมีการไหลเวียนของน้ำตลอดเวลา แต่ละชุดให้อาหารทดลอง 2 ชนิด เป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 20 สัปดาห์ โดยทำการทดลอง 20 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีทากเปลือย 1 ตัว พร้อมชั่งวัดขนาด (น้ำหนักและความยาวเหยียด) ทุกสัปดาห์จนสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้ ทำการประเมินความสัมพันธ์ของอาหารกับการผลิตสาร renieramysin โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทากเปลือยครั้งละ 2 ตัว เมื่อเริ่มต้นการทดลองและทุกสัปดาห์จนสิ้นสุดการทดลอง เพื่อทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารที่สะสมในร่างกาย

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการประเมินและเปรียบเทียบการเติบโต อัตรารอด รวมถึง ปริมาณการสะสมของสาร renieramycin ในทากเปลือยทุกสัปดาห์ พร้อมทั้งเปรียบเทียบระหว่างชุดการศึกษาในระบบเลี้ยงบนบกและในทะเลธรรมชาติ



รูปที่ 1. ทากเปลือย *Jorunna funebris* (Kelaart, 1858) กับฟองน้ำ *Xestospongia* sp.

การวิเคราะห์ปริมาณสารทุติยภูมิหรือสาร renieramysin ที่สร้างขึ้นโดยทากเปลือย ดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างทากเปลือยในแต่ละชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ตัว มาทำการวิเคราะห์ปริมาณสาร renieramycin จากอวัยวะต่างๆได้แก่ ส่วนแมนเทิล ส่วนเท้า และส่วนอวัยวะภายใน ทำการเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในตู้แช่เยือกแข็งที่มีอุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ก่อนนำสารไปวิเคราะห์เมื่อเริ่มการทดลอง จนสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 3 ขั้นตอนการสกัดสาร renieramycin ใช้วิธีการของ Suwanborirux *et al.,* 2003 โดยมีขั้นตอนตามรูปที่ 2 นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งอาศัยหลักโครมาโทกราฟี วัดค่าการดูดกลืนแสงและนำไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสาร renieramycin ต่อไป



รูปที่ 2. ขั้นตอนการสกัดสาร renieramycin จากทากเปลือย *Jorunna funebris* (ที่มา: Suwanborirux *et al.,* 2003)

4. สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล

4.1 สถานที่ศึกษา: แนวปะการังแหลมปู่เจ้า และ แนวปะการังเขาหมาจอ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

4.2 สถานที่ทดลองในระบบเลี้ยง: พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย จังหวัดชลบุรี

4.3 สถานที่วิเคราะห์ข้อมูลและอื่นๆ: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

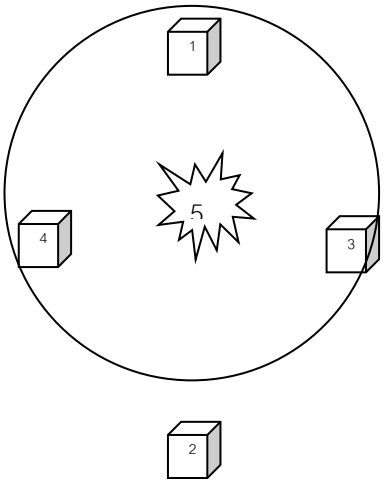
5. ผลการดำเนินงาน

ผลการดำเนินงานในช่วง 12 เดือน แสดงในตารางที่ 1 ทั้งนี้ จากการสำรวจ และ เก็บตัวอย่างในเดือนธันวาคม 2557 ที่แนวปะการังหาดเทียน เกาะแสมสาร และ แนวปะการังเขาหมาจอ ไม่พบตัวอย่างทากเปลือย *Jorunna funebris* ในพื้นที่ จึงเปลี่ยนสถานที่เป็นแนวปะการังแหลมปู่เจ้าในเดือนต่อมา ซึ่งพบตัวอย่างทากเปลือยที่มีขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก จึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างประมาณ 100 ตัว เพื่อนำมาปรับสภาพในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2558 แล้วจึงสุ่มคัดทากเปลือยที่มีสุขภาพแข็งแรง ขนาดโดยน้ำหนักเริ่มต้นระหว่าง 4.0 – 4.4 กรัม จำนวน 80 ตัว มาจัดชุดการทดลองในระบบเลี้ยงและในธรรมชาติชุดการทดลองละ 40 ตัว เพื่อทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 1. รายละเอียดการดำเนินงานในช่วง 12 เดือน (ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558)

ช่วงเวลา		รายละเอียดการดำเนินการ	สถานที่
เดือนที่ 1	ตุลาคม 2557	จัดเตรียมอุปกรณ์	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 2	พฤศจิกายน 2557	จัดเตรียมอุปกรณ์	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 3	ธันวาคม 2557	สำรวจ และ เก็บตัวอย่าง	แนวปะการังหาดเทียน / เขาหมาจอ
เดือนที่ 4	มกราคม 2558	สำรวจ และ เก็บตัวอย่าง	แนวปะการังแหลมปู่เจ้า
เดือนที่ 5	กุมภาพันธ์ 2558	ปรับสภาพตัวอย่าง	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 6	มีนาคม 2558	เริ่มการทดลอง	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 7	เมษายน 2558	การทดลอง	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 8	พฤษภาคม 2558	การทดลอง	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 9	มิถุนายน 2558	การทดลอง	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 10	กรกฎาคม 2558	การทดลอง	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 11	สิงหาคม 2558	การทดลอง	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย
เดือนที่ 12	กันยายน 2558	จบการทดลอง	พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเกาะและทะเลไทย

สำหรับผลการทดลองเบื้องต้น แสดงในรูปที่ 1 และตารางที่ 2 โดยในเบื้องต้นทำการหาชนิดของฟองน้ำอย่างน้อย 2 ชนิดที่ ทากเปลือย *Jorunna funebris* กิน โดยในเบื้องต้นได้ทำการให้ฟองน้ำ 4 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 1



1. ***Gelliodes petrosioides***
2. ***Clathria (Thalysias) reinwardti***
3. ***Callyspongia (Cladochalina) diffusa***
4. ***Xestospongia sp***

รูปที่ 3. การทดลองการให้อาหาร 4 ชนิด แก่ทากเปลือย *Jorunna funibris*

ซึ่งจากการทดลองพบว่า ทากเปลือยเลือกกินแต่ฟองน้ำชนิด *Xestospongia* และไม่มีฟองน้ำชนิดอื่นที่ทากเปลือย *Jorunna funebris* เลือกกิน ดังแสดงในตารางที่2 ดังนั้นการทดลองนี้จึงทำการทดลองต่อด้วยการให้อาหารฟองน้ำ *Xestospongia* เพียง 1 ชนิดเท่านั้น

ตารางที่ 2. การเลือกกินอาหารของทากเปลือย *Jorunna funebris*

Prey species	**Accept**	**Reject**
Gelliodes petrosiodes		√
Calthria (Thalysias) reinwardti		√
Callyspongia (Cladochalina) diffusa		√
Xestospongia sp.	√	

จากการนำตัวอย่างทากเปลือยมาสุ่มแยกชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองที่ 1 ทำการเลี้ยงในธรรมชาติ โดยใส่ทากเปลือยในตะกร้าแขวนในทะเล และชุดการทดลองที่ 2 ทำการเลี้ยงในระบบเลี้ยงบนบก โดยใส่ทากเปลือยในภาชนะพลาสติกที่อยู่ในตู้กระจกที่ให้อากาศและมีการไหลเวียนของน้ำตลอดเวลา เป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 20 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า อัตราการเติบโตและอัตราการรอดของทากเปลือยต่างกันในชุดการทดลองที่ต่างกัน โดยทากเปลือยที่ทำการเลี้ยงในธรรมชาติมีอัตราการเติบโตทั้งความยาวและน้ำหนักที่มากกว่าทากเปลือยที่นำมาเลี้ยงในระบบเลี้ยง นอกจากนี้ อัตราการรอดของทากเปลือยที่เลี้ยงในธรรมชาติจะสูงกว่าที่เลี้ยงในระบบเลี้ยง (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3. อัตราการเติบโตและอัตรารอดของทากเปลือย *Jorunna funebris* เปรียบเทียบการเลี้ยงในธรรมชาติและระบบเลี้ยงในช่วง 20 สัปดาห์

การเลี้ยง	**การเติบโต (cm)**	**การเติบโต (g)**	**อัตราการรอด (%)**
เลี้ยงในธรรมชาติ	5.2±0.61	9.2±1.23	83±2.80
เลี้ยงในระบบเลี้ยง	3.9±0.52	6.7±1.10	79±2.66

จากการวิเคราะห์ปริมาณการผลิตสาร renieramysin ที่สะสมในร่างกายของทากเปลือยเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงในธรรมชาติและการเลี้ยงในระบบเลี้ยงพบว่า ทากเปลือยที่ถูกเลี้ยงในธรรมชาติมีการผลิตสาร renieramycin M ที่สูงกว่า ทากเปลือยที่ถูกเลี้ยงในระบบเลี้ยง (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 4. ปริมาณการสะสมของสาร renieramycin M ในทากเปลือย *Jorunna funebris* เปรียบเทียบการเลี้ยงในธรรมชาติและระบบเลี้ยงในช่วง 20 สัปดาห์

การเลี้ยง	สาร renieramycin M concentration (X1000 ng/g)
เลี้ยงในธรรมชาติ	1.98±0.36
เลี้ยงในระบบเลี้ยง	0.81±0.47

6. สรุปและวิจารณ์ผล

ผลการศึกษาการเติบโตและอัตราการรอดของทากเปลือยที่เลี้ยงในธรรมชาติและระบบเลี้ยงพบว่า ทากเปลือยที่ถูกเลี้ยงในธรรมชาติมีอัตราการเติบโตและการรอดที่สูงกว่าในระบบเลี้ยง โดยอัตราการเติบโตในธรรมชาติและในระบบเลี้ยงประมาณ 0.46 และ 0.34 กรัมต่อสัปดาห์ ตามลำดับ และอัตราการรอดของทากเปลือยในธรรมชาติอยู่ที่ 83%

นอกจากนั้น จากการศึกษาพบว่า ทากเปลือยเลือกกินแต่ฟองน้ำชนิด *Xestospongia* เท่านั้น ฟองน้ำชนิดนี้เป็นฟองน้ำหินปูน มีสปิคูลเป็นรูปเข็ม 3 แฉกหรือ 4 แฉกทำให้มีลักษณะแข็งเปราะ จากการศึกษาพบว่า ฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospongia* sp. สามารถผลิตสาร Renieramycins ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม bistetrahydroisoquinoline alkaloids ที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านเซลล์มะเร็ง (Suwanborirux et al., 2003; Amnuoypol et al., 2004) และจากผลการทดลองเมื่อเลี้ยงทากเปลือย *Jorunna funebris* ในระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดหรือระบบเลี้ยงพบว่า ทากเปลือย *J. funebris* มีปริมาณการกินอาหารลดลง อาจเนื่องมาจากฟองน้ำแต่ละโคโลนีที่นำมาให้อาหารทากเปลือยมีปริมาณสารทุติยภูมิน้อย ทากเปลือยจึงไม่เลือกกินฟองน้ำที่มีสารทุติยภูมิอยู่น้อย จากการศึกษาของ Cimino et al (2001) รายงานว่าทากเปลือยมีการเลือกกินอาหารเพื่อให้ได้ประโยชน์และนำไปใช้ประโยชน์ให้ได้มากที่สุด โดยพลังงานที่ได้จากการกินอาหารของทากเปลือยนั้น จะนำมาใช้ในขบวนการ metabolism การเจริญเติบโต เมือก และการขับถ่าย ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Thompson (1976) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของพลังงานในทากเปลือยชนิดอื่น และพบว่าพลังงานส่วนหนึ่งที่นำเข้าไปได้ถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นสิ่งขับถ่าย การเติบโต และการย่อยอาหาร รวมทั้งสามารถนำพลังงานที่เข้าไปมาใช้ในการเปลี่ยนโครงสร้างสารเคมีเพื่อป้องกันตัว ซึ่งในระบบปิดหรือระบบเลี้ยงที่ไม่มีผู้ล่า ทากเปลือยไม่จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนพลังงานบางส่วนไปในการสร้างสารทุติยภูมิเพื่อใช้ในการป้องกันตัว ทำให้ปริมาณการกินอาหารของทากเปลือยในระบบปิดมีปริมาณต่ำกว่าในธรรมชาติ จึงทำให้การเติบโตและการสร้างสารของทากเปลือยในระบบเลี้ยงน้อยกว่าในธรรมชาติ

ดังนั้น จากการที่แนวโน้มการผลิตสารทุติยภูมิหรือสาร renieramysin ของทากเปลือยที่มีแนวโน้มลดลงเมื่อเลี้ยงในระบบเลี้ยงหรือตู้ทดลองนั้น ในการเลี้ยงหรืออนุบาลทากเปลือยเพื่อนำสารทุติยภูมิหรือสาร renieramysin มาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไปนั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเลี้ยงหรืออนุบาลทากเปลือยในทะเลเพื่อให้ทากเปลือยสามารถผลิตสารดังกล่าวได้ในปริมาณมาก

7. เอกสารอ้างอิง

ณรงค์พล สิทธิทวีพัฒน์. 2544. การสำรวจชนิดและการแพร่กระจายของทากเปลือยในแนวปะการังของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 250 หน้า.

นำพร อินสิน, พงศ์พโยม พหุลรัต, ลัดดา เตชะวิริยะทวีสิน. 2548. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่ม บิสเตตราไฮโดรไอโซควิโนลีนแอลคาลอยด์จากทากเปลือย *Jorunna funebris* ด้วย HPLC. โครงการปริญญานิพนธ์. คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 36 หน้า.

ภัททิรา เกษมศิริ. 2547. การศึกษาวิจัยปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการวางไข่และการพัฒนาการของตัวอ่อนทากเปลือย : กรณีศึกษาจากทากเปลือยบริเวณเกาะหม้อในและเกาะหม้อนอก หมู่เกาะช้าง จังหวัดตราด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 181 หน้า.

สุชนา ชวนิชย์ และ วรณพ วิยกาญจน์. 2551. ทากเปลือย. ใน พจนา บุณยเนตร (บก), คู่มือทรัพยากรชีวภาพหมู่เกาะมัน. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ. 142-147.

Amnuoypol, S., Suwanborirux, K., Pummangura, S., Kubo, A., Tanaka, C., and Saito, N. 2004. Chemistry of renieramycins. Part 5. Structure elucidation of renieramycin-type derivatives O, Q, R, and S from Thai marine sponge *Xestospongia* species pretreated with potassium cyanide. *J. Nat. Prod.* 67: 1023-1028.

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 Northwet Anlantic 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 Kuiter, 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 Drahein, 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., Shiroiwa, 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 spanisch 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-methoxyiso-quinolinemethanol. *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.