องค์ประกอบทางชีวเคมีและผลของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* sp. ต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม

นายกัณพจน์ เตชะวงค์เสถียร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Biochemical Composition and Effects of Mucus from Sea Slug *Onchidium* sp. on Growth Rate of Benthic Diatom

Mr. Kannapoj Techawongstien

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Marine Science
Department of Marine Science
FACULTY OF SCIENCE
Chulalongkorn University
Academic Year 2020

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	องค์ประกอบทางชีวเคมีและผลของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* sp. ต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม
โดย	นายกัณพจน์ เตชะวงค์เสถียร
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.ศุภณัฐ ไพโรหกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.วรณพ วิยกาญจน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ดร.ศุภณัฐ ไพโรหกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อิชฌิกา ศิวายพราหมณ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กัณพจน์ เตชะวงค์เสถียร : องค์ประกอบทางชีวเคมีและผลของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* sp. ต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม. (Biochemical Composition and Effects of Mucus from Sea Slug *Onchidium* sp. on Growth Rate of Benthic Diatom) อ.ที่ปรึกษาหลัก : อ. ดร.ศุภณัฐ ไพโรหกุล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ

สิ่งมีชีวิตหลายชนิดในทะเลสร้างและหลั่งเมือกเพื่อใช้ในกิจกรรมการดำรงชีวิตและกระบวนการทางสรีระอย่างหลากหลาย เช่น การเคลื่อนที่ การป้องกันตัว และการหาอาหาร กล่าวได้ว่าเมือกมีความสำคัญต่อกิจกรรมการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด โดยเฉพาะกับมอลลัสก์ เมือกจากมอลลัสก์นอกจากถูกใช้ในกิจกรรมการดำรงชีวิตของตัวมอลลัสก์เองแล้ว ยังมีประโยชน์ต่อสังคมสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศโดยรอบด้วย การศึกษานี้จึงมุ่งเน้นศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* และผลของเมือกจากทากทะเลต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม เมือกจากทากทะเล *Onchidium* ถูกเจือจางความเข้มข้นแบ่งเป็น 100% 75% 50% และ 25% ในน้ำทะเลเพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเบนทิคไดอะตอม นอกจากนี้เมือกจากทากทะเลอีกส่วนถูกบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลงเป็นเวลา 0 1 2 4 และ 8 รอบน้ำขึ้น-น้ำลง ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงเบนทิคไดอะตอม 3 ชนิด ได้แก่ *Navicula* sp., *Nitzschia* sp., และ *Thalassiosira* sp. ผลการศึกษาพบว่าองค์ประกอบชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* มีส่วนประกอบหลักคือ น้ำ (82.5%) และองค์ประกอบอินทรียสารประกอบด้วยโปรตีน (40%) คาร์โบไฮเดรต (13.33%) และไขมัน (0.19%) ผลของเมือกจากทากทะเลต่ออัตราการเจริญเติบโตของเบนทิคไดอะตอมมีความแตกต่างกันในแต่ละสภาพของเมือกและชนิดพันธุ์ของเบนทิคไดอะตอม เมือกที่หลั่งใหม่และเมือกที่เข้มข้นยับยั้งและลดการเติบโตของ *Navicula* sp. และ *Nitzschia* sp. ในขณะที่เมือกที่เจือจางและมีอายุมากเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเบนทิคไดอะตอมทั้งสองชนิด อย่างไรก็ตามเมือกจากทากทะเลไม่ส่งผลต่ออัตราการเติบโตของ *Thalassiosira* sp. ในทุกสภาพของเมือก กล่าวได้ว่าทากทะเล *Onchidium* อาจมีส่วนสำคัญต่อโครงสร้างชุมชนระบบนิเวศชายฝั่งทำหน้าที่เป็น intertidal ecosystem engineer ที่ส่งเสริมการลงเกาะและเจริญเติบโตของชุมชนเบนทิคไดอะตอม

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

6071907623 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEYWORD: Mucus, Marine Pulmonate Slugs, Onchidium, Facilitation, Ecosystem Engineer, Benthic Phytoplankton Community

Kannapoj Techawongstien : Biochemical Composition and Effects of Mucus from Sea Slug *Onchidium* sp. on Growth Rate of Benthic Diatom. Advisor: Dr. SUPANUT PAIROHAKUL, Ph.D. Co-advisor: Assoc. Prof. Dr. THAITHAWORN LIRDWITAYAPRASIT, Ph.D

Many marine organisms, especially molluscs, produce mucus, which can be used in several physiological processes, such as locomotion and defence. In addition to utilization for themselves, mollusc mucus may influence intertidal community dynamics. Therefore, the biochemical composition of *Onchidium* mucus was investigated. The effects of mucus on the microphytobenthos growth rate, representing the ecological functions of the mucus, were also tested. The results showed that the mucus was mainly composed of water (82.5%), and a large proportion of the organic content in mucus consisted of proteins (40%), followed by carbohydrates (13.33%) and lipids (0.19%). The effects of mucus on microphytobenthos growth were conditional and species-specific. Growth of *Navicula* sp. and *Nitzschia* sp. significantly responded to different concentrations and incubation times of the slug mucus. Fresh and concentrated mucus inhibited the growth of both species; low mucus concentration and longer incubation time showed a significant increase in the growth rates of both species. However, no effect of mucus on the *Thalassiosira* sp. growth rate was observed. These effects of mucus on diatom growth are discussed. Moreover, our findings suggested that the intertidal slug *Onchidium* may act as an intertidal ecosystem engineer, which can facilitate and influence benthic phytoplankton community dynamics.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Field of Study:	Marine Science	Student's Signature .....
Academic Year:	2020	Advisor's Signature .....
		Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.ศุภณัฐ ไพโรหกุล ที่คอยให้คำปรึกษา ข้อคิดเห็น ตลอดจนการตรวจแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์และ manuscript อาจารย์เป็นผู้จุดประกายความอยากเรียนอยากรู้ได้อย่างยอดเยี่ยม อาจารย์ช่วยแนะแนวทางในการวิเคราะห์ สังเคราะห์ และแก้ไขปัญหา ช่วยเพิ่มพูนทักษะ Critical thinking ได้อย่างดีเยี่ยม นอกจากในเรื่องวิชาการแล้ว อาจารย์ยังเป็นคนที่คอยให้คำปรึกษาในเรื่องต่าง ๆ มากมาย คอยกระตุ้นให้ไม่ยอมแพ้ พยายามฝ่าฟันอุปสรรคจนลุล่วงด้วยดี จึงต้องขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ ที่ให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์ผล และเอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ ตลอดจนเทคนิคที่สำคัญในการทำวิจัยครั้งนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จไปได้ด้วยดี และนางสาวอิงอร ทองคำดี นักวิจัยผู้เอื้อเฟื้อเทคนิคและอุปกรณ์การทำวิจัย รวมถึงคอยช่วยดูแล เสนอแนะแนวทาง และช่วยแก้ไขปัญหาอุปสรรคในการทำวิจัยจนงานสำเร็จลุล่วง

ขอขอบคุณนางสาว วรัชยา เลี่ยวเทียนไชย ที่คอยให้กำลังใจ ช่วยเตือนสติ และเป็นแรงบันดาลใจให้ทำงานได้อย่างสำเร็จลุล่วง รวมถึงเป็นคู่คิด ให้คำปรึกษา ช่วยตรวจภาษาต่าง ๆ นานา และที่สำคัญที่สุดคือการที่อยู่เคียงข้างเสมอตลอดมา

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา และทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณครอบครัวบิดา มารดา พี่สาวและน้องชาย ที่สนับสนุนในทุกด้าน ทั้งร่างกายและจิตใจ เป็นกำลังใจที่ดีเสมอ ตลอดจนครู-อาจารย์ทุกท่านที่เคยอบรมสั่งสอน ตลอดมาจนจบการศึกษาด้วยดี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กัณพจน์ เตชะวงค์เสถียร

สารบัญ

หน้า

..... ค

บทคัดย่อภาษาไทย..... ค

..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ง

กิตติกรรมประกาศ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ซ

สารบัญรูป ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2. วัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 2

1.3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

บทที่ 2 สำรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

2.1. เมือกในสิ่งมีชีวิต 3

2.2. ระบบนิเวศชายฝั่ง..... 6

2.3. การเปลี่ยนแปลงแทนที่ของสังคมสิ่งมีชีวิต (community succession)..... 7

2.4. ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก..... 10

2.5. ชีววิทยาของทากทะเล *Onchidium* sp. 11

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 13

3.1.1. การเก็บตัวอย่างสัตว์ทดลองและเมือก 13

3.1.2. การคัดเลือกและเพาะสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก..... 15

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.1. การทดลองที่ 1: ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเมือกจากทากทะเลต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม 17
3.3.2. การทดลองที่ 2: ผลของเมือกทากที่ผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลงต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม 17
บทที่ 4 ผลการศึกษา 20
ผลองค์ประกอบชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* 20
ผลของการเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของเมือกจากทากทะเลต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม 21
ผลของเมือกทากที่ผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลงต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม 25
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง 29
บรรณานุกรม 36
ประวัติผู้เขียน 46

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 องค์ประกอบชีวเคมีของเมือกจากมอลลัสก์บางชนิด ดัดแปลงมาจาก Davies และ Hawkins (1998)..... 5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 การขูดกินสาหร่ายหน้าดิน (สีน้ำตาลเข้ม) ของกลุ่มทากทะเล *Onchidium* sp. ทำให้เกิดเป็นที่ว่างที่เหมาะสมต่อการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น 7

รูปที่ 2 กระบวนการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศทางทะเล (marine biofouling) แหล่งที่มา: (Martín-Rodríguez *et al.*, 2015)..... 8

รูปที่ 3 กลุ่มของทากทะเล *Onchidium* sp. บนหาดหิน แหลมแท่น จังหวัดชลบุรี 12

รูปที่ 4 แผนผังการศึกษาเมือกจากทากทะเล *Onchidium* แบ่งออกเป็น 2 การทดลองหลักคือ องค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล และ ผลของเมือกต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม..... 14

รูปที่ 5 แผนภาพชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลง (ซ้าย) และ ชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลง (ขวา)..... 19

รูปที่ 6 องค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* sp. 20

รูปที่ 7 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(♦) ของ *Navicula* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน แบ่งเป็น 100%, 75%, 50%, 25% และ น้ำทะเลเป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ..... 22

รูปที่ 8 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(♦) ของ *Nitzschia* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน แบ่งเป็น 100%, 75%, 50%, 25% และ น้ำทะเลเป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 23

รูปที่ 9 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(♦) ของ *Thalassiosira* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน แบ่งเป็น 100%, 75%, 50%, 25% และ น้ำทะเลเป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ..... 24

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 10 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(◆) ของ *Navicula* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลง ตั้งแต่ 0, 1, 2, 4, และ 8 รอบน้ำขึ้นน้ำลง ซึ่งแทนที่ด้วยสัญลักษณ์ T0, T1, T2, T4, และ T8 ตามลำดับ โดยมี SW เป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 26

รูปที่ 11 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(◆) *Nitzschia* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลง ตั้งแต่ 0, 1, 2, 4, และ 8 รอบน้ำขึ้นน้ำลง ซึ่งแทนที่ด้วยสัญลักษณ์ T0, T1, T2, T4, และ T8 ตามลำดับ โดยมี SW เป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 27

รูปที่ 12 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(◆) ของ *Thalassiosira* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลง ตั้งแต่ 0, 1, 2, 4, และ 8 รอบน้ำขึ้นน้ำลง ซึ่งแทนที่ด้วยสัญลักษณ์ T0, T1, T2, T4, และ T8 ตามลำดับ โดยมี SW เป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 28

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ระบบนิเวศชายฝั่งเป็นระบบนิเวศที่มีความสำคัญต่อการแลกเปลี่ยนสารและการหมุนเวียนสารอาหารระหว่างแหล่งสารอาหารจากภาคพื้นทวีปและมหาสมุทร เนื่องจากระบบนิเวศชายฝั่งเป็นบริเวณที่มีสายใยอาหารที่ซับซ้อนและสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดในระบบนิเวศเกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนสารและการหมุนเวียนสารอาหารโดยสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในบริเวณระบบนิเวศชายฝั่ง ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่ากิจกรรมการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศชายฝั่งจึงมีบทบาทหน้าที่ที่สำคัญต่อการหมุนเวียนสารอาหารระหว่างพื้นทวีปและมหาสมุทร (Bracken, 2004) มอลลัสก์จัดเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งอย่างแพร่หลายและชุกชุม มอลลัสก์จึงมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งต่อระบบนิเวศชายฝั่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบนิเวศชายฝั่งของไทย ซึ่งพบการกระจายตัวของมอลลัสก์อยู่โดยทั่ว มอลลัสก์เป็นหนึ่งในสิ่งมีชีวิตจำนวนมากที่สุดที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศชายฝั่ง กิจกรรมการดำรงชีวิตและกระบวนการทางสรีระของมอลลัสก์จำนวนมากล้วนเกี่ยวพันกับการหลั่งเมือก เช่น การเคลื่อนที่ การหาอาหาร การป้องกันภัย และการสืบพันธุ์ เมือกของมอลลัสก์บางชนิด เช่น เมือกจาก *Patella vulgata* และ *Littorina littorea* จะอุดมไปด้วยสารอาหารที่เหมาะสมต่อสังคมสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศชายฝั่ง โดยเฉพาะการนำไปใช้ประโยชน์ในการเติบโตของแบคทีเรียและสาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเปลี่ยนรูปของสารและการหมุนเวียนสารอาหารในระบบนิเวศ (Davies *et al*., 1992; Edwards and Davies, 2002)

มอลลัสก์ชนิดหนึ่งที่พบอย่างชุกชุมและหลากหลายในระบบ นิเวศชายฝั่งทะเลไทย คือ ทากทะเลในสกุล *Onchidium* โดยกิจกรรมการดำรงชีวิตของทากทะเลชนิดนี้เกี่ยวข้องกับการขูดกินสาหร่ายและสารอาหารที่อยู่บริเวณหน้าดิน ซึ่งในการเคลื่อนที่ของทากทะเลดังกล่าวนี้จะมีการหลั่งเมือกออกมาจำนวนมากไปทั่วบริเวณชายฝั่งโดยเฉพาะในระบบนิเวศหาดหิน ทำให้ทากทะเลชนิดนี้อาจจะมีส่วนสำคัญต่อปริมาณสารอาหารและการสร้างพื้นที่ว่างในระบบนิเวศดังกล่าว อย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกและผลของเมือกของทากชนิดนี้ต่ออัตราการเติบโตของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่โดยรอบยังคงมีน้อยและไม่ต่อเนื่องกัน ทำให้องค์ความรู้เกี่ยวกับหน้าที่และความสำคัญของทากชนิดนี้ต่อระบบนิเวศชายฝั่งยังคงคลุมเครือ ซึ่งอาจจะส่งผลต่อความเข้าใจภาพรวมเกี่ยวกับการหมุนเวียนสารอาหารในระบบนิเวศชายฝั่ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากที่กล่าวมาข้างต้นนี้ จะเห็นได้ว่า ทากทะเล *Onchidium* มีความสำคัญต่อการหมุนเวียนสารอาหารในระบบนิเวศชายฝั่ง ซึ่งเป็นระบบนิเวศที่พบทากชนิดนี้กระจายตัว และอาศัยอยู่อย่างชุกชุม งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีและผลของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* ต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม เพื่อให้เข้าใจถึงบทบาทหน้าที่และความสำคัญของสิ่งมีชีวิตชนิดดังกล่าวในสายใยอาหารและโครงสร้างชุมชนสิ่งมีชีวิตของระบบนิเวศชายฝั่ง และเพื่อเป็นพื้นฐานความรู้ความเข้าใจกลไกการหมุนเวียนสารอาหารและการถ่ายทอดพลังงานในระบบนิเวศชายฝั่งต่อไป

1.2. วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล *Onchidium*
2. ศึกษาผลของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* ต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอมเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยเมือกต่างความเข้มข้น
3. ศึกษาผลของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* ต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอมเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยเมือกต่างช่วงระยะเวลาการบ่ม (incubation time)

1.3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากผลการศึกษานี้จะช่วยเติมเต็มองค์ความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับการหมุนเวียนสารอาหารในระบบนิเวศชายฝั่ง ซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตจำนวนมาก ทั้งยังช่วยเติมเต็มความรู้ซึ่งขาดหายและขาดความต่อเนื่องของทากชนิดนี้ นอกจากนี้การเข้าใจบทบาทหน้าที่และผลกระทบของทากทะเลดังกล่าวในระบบนิเวศชายฝั่ง ช่วยให้สามารถจัดลำดับความสำคัญและเป้าหมายในการอนุรักษ์ฟื้นฟูระบบนิเวศชายฝั่งได้ชัดเจนและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

บทที่ 2
สำรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. เมือกในสิ่งมีชีวิต

เมือกเป็นสารที่หลั่งออกจากเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของสิ่งมีชีวิต มักมีคุณสมบัติในการหล่อลื่นโดยเมือกมีส่วนประกอบหลักสำคัญคือ น้ำ (Wainwright *et al.*, 1982; Davies and Hawkins, 1998; Smith and Morin, 2002; Stabili *et al.*, 2019) และมีส่วนประกอบอื่นที่เหลือเป็นของแข็งซึ่งสามารถจัดได้เป็นสองกลุ่มหลัก คือ อินทรียสาร (organic matter) เช่น โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต และ กลุ่มที่เป็นเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยสัดส่วนองค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกแตกต่างกันออกไปด้วยหลายปัจจัย เช่น ฤดูกาล ขนาดและอายุของสิ่งมีชีวิต สปีชีส์ และการใช้ประโยชน์จากเมือก (Connor, 1986; Davies *et al.*, 1990b; Davies and Hawkins, 1998) กระบวนการสร้างเมือกเป็นกระบวนการที่ใช้พลังงานสูงและเมือกที่สร้างขึ้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในหลายแง่มุม (Davies *et al.*, 1990a) จากการศึกษาของ Davies และ Hawkins (1998) พบว่ามอลลัสก์สามารถใช้ประโยชน์จากเมือกในหลายกิจกรรม ตั้งแต่การเคลื่อนที่ การหาอาหาร การยึดเกาะพื้นผิว การสืบพันธุ์ รวมไปถึงการลดแรงปะทะและความเครียดที่เกิดขึ้นจากสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้เมือกยังถูกใช้ประโยชน์ในการป้องกันตนเองจากแบคทีเรียและขยะไม่พึงประสงค์ที่เกาะตามผิวลำตัว (Baier, 2014) และยังเกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวเอง (Suzuki *et al.*, 2003; Stabili *et al.*, 2009; Stabili *et al.*, 2011; Stabili *et al.*, 2019) นอกจากประโยชน์ของเมือกต่อตัวของสิ่งมีชีวิตเองแล้ว เมือกของมอลลัสก์อาจทำให้เกิดประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อมโดยรอบ เช่น เมือกจากมอลลัสก์บางชนิดถูกนำไปใช้ใน “การเพาะ (farming)” แหล่งอาหาร ดังนั้นจึงส่งผลต่อโครงสร้างชุมชนของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กและแบคทีเรียในพื้นที่ เมือกที่นำไปใช้ในการเพาะมีการรายงานในมอลลัสก์หลายชนิด เช่น หอยนกฮูก *Lottia gigantea*, หอยฝาเดียว *Collisella scabra, Calliostoma zizyphinum,* และหอยนางรม *Crassostrea gigas* โดยเมือกรูปแบบดังกล่าวถูกพบว่ามีความสามารถในการเป็นสารอาหารเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิด (Connor and Quinn, 1984; Connor, 1986; Cognie and Barille, 1999; Holmes, 2005) ซึ่งการเพาะแหล่งอาหารนี้จะทำให้สาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้เป็นแหล่งอาหารสำหรับตัวมอลลัสก์เอง การศึกษาของ Calow (1974) พบว่าหาก *Pianorbis contortus* มีพฤติกรรมย้อนกลับมากินเมือกที่

เคยปล่อยไว้หลังจากที่เมือกกลายเป็นแหล่งเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นแหล่งสารอาหารหลักของทาก นอกจากนี้ยังมีการรายงานพฤติกรรมการย้อนกลับมากินหรือใช้ประโยชน์จากเมือกที่เคยปล่อยไว้ในหอยฝาเดียวชนิด *Patella vulgata* และ *Littorina littorea* (Davies *et al.*, 1992a; Edwards and Davies, 2002) นอกจากนี้เมือกมอลลัสก์ยังถูกพบว่ามีบทบาทสำคัญในกระบวนการคืนแร่ธาตุ (Remineralization) ในพื้นที่ชายฝั่ง โดยมีส่วนสำคัญในการเร่งกระบวนการคืนธาตุไนโตรเจนถึง 29% (Hannides and Aller, 2016) ซึ่งการที่เมือกถูกนำไปใช้ประโยชน์โดยสิ่งมีชีวิตอื่นแสดงได้ว่าเมือกที่ถูกหลั่งจากมอลลัสก์มีประโยชน์และส่งผลกระทบต่อชุมชนสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมในระบบนิเวศชายฝั่ง (Branch and GM, 1981; Denny, 1989; Davies and Hawkins, 1998) อย่างไรก็ตามเมือกจากมอลลัสก์ก็มีความสามารถในการเป็นสารยับยั้ง (inhibitor) การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ฟังไจ และไวรัส (Pitt *et al.*, 2015; Cilia and Fratini, 2018; Ulagesan and Kim, 2018) สำหรับสาหร่ายบางชนิด เช่น *Fucus spiralis* พบว่าเมือกจากหอย *Patella vulgata* มีส่วนสำคัญในการช่วยเพิ่มอัตราการลงเกาะ (settlement) แต่ลดอัตราการการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Fucus* sp. ได้ (Holmes, 2005)

จากการศึกษาของ Davies และคณะ (1992) พบว่าทั้งปัจจัยทางชีวภาพและปัจจัยกายภาพล้วนส่งผลต่อความสามารถในการใช้เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการหาอาหารและอายุของเมือกบนพื้นที่ชายฝั่ง ปัจจัยกายภาพ เช่น รอบน้ำขึ้น-น้ำลง กระแสลม และอุณหภูมิโดยรอบ สามารถส่งผลให้เมือกถูกย่อยและเปลี่ยนสภาพจากรูปแบบเดิม ในส่วนของปัจจัยทางชีวภาพ เช่น การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรีย และการเสียสภาพจากกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตอื่นในพื้นที่ชายฝั่งจัดเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่ทำให้เมือกเสียสภาพและมีอายุขัยบนชายฝั่งที่สั้น แม้จะเป็นที่ยอมรับว่าบทบาทหน้าที่และความสำคัญของเมือกจากมอลลัสก์ส่งผลอย่างมากต่อโครงสร้างและสารอาหารในระบบนิเวศชายฝั่ง อย่างไรก็ตามคุณสมบัติและบทบาทของเมือกยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอย่างมาก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 1 องค์ประกอบชีวเคมีของเมือกจากมอลลัสก์บางชนิด ดัดแปลงมาจาก Davies และ Hawkins (1998)

ชนิด	น้ำหนักเปียก/น้ำหนักแห้ง % ± SE	สัดส่วนองค์ประกอบในน้ำหนักแห้ง			
		อนินทรีย์สาร % ± SE	โปรตีน % ± SE	คาร์โบไฮเดรต % ± SE	ไขมัน % ± SE
Patella vulgata	91.9 ± 0.2	49.3 ± 1.3	31.7 ± 0.4	14.4 ± 0.1	N.R.
Lottia gigantea	93.5 ± 0.9	43.0 ± 2.0	36.8 ± 7.5	18.4 ± 0.2	0.3 ± 0.3
Collisella scabra	89.3 ± 0.9	47.0 ± 1.5	36.2 ± 2.4	17.1 ± 0.9	0.4 ± 0.1
Collisella digitalis	90.6 ± 0.6	45.0 ± 2.5	29.7 ± 3.9	8.1 ± 1.3	0.8 ± 0.5
Nucella emarginata	81.4 ± 0.5	75.7 ± 1.3	1.30 ± 0.8	25.4 ± 3.5	0.2 ± 0.2
Nacella concinna	N.R.	50.3 ± 2.7	31.1 ± 2.05	12.4 ± 1.08	2.51 ± 0.73

*N.R. = ไม่มีการรายงาน

CHULALONGKORN UNIVERSITY จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2. ระบบนิเวศชายฝั่ง

ระบบนิเวศชายฝั่งเป็นระบบนิเวศที่มีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีการแลกเปลี่ยนสารอาหารและพลังงานระหว่างแหล่งสารอาหารจากภาคพื้นทวีปและมหาสมุทร ระบบนิเวศชายฝั่งได้รับสารอาหารที่จำเป็นจากมหาสมุทร ในขณะเดียวกันสารอาหารจากภาคพื้นทวีปถูกสิ่งมีชีวิตชายฝั่งนำไปใช้และเปลี่ยนรูปให้กลายเป็นแหล่งสารอาหารกลับคืนสู่มหาสมุทรอีกครั้ง ดังนั้นจึงอาจพิจารณาได้ว่าสิ่งมีชีวิตที่อยู่อาศัยในพื้นที่ชายฝั่งมีความสำคัญต่อการหมุนเวียนสารอาหารและเปลี่ยนรูปสารอาหารให้เป็นแร่ธาตุที่จำเป็น (mineralization) ในการศึกษานิเวศวิทยาทางทะเล สิ่งมีชีวิตที่มีการดำรงชีวิตแบบขูดกินอาหารหน้าดิน (grazer) มีส่วนสำคัญอย่างมากต่อรูปแบบโครงสร้างชุมชนสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก (benthic microalgae community structure) สิ่งมีชีวิตขูดกินอาหารหน้าดินสามารถลดมวลชีวภาพ (biomass) ของสาหร่ายหน้าดิน ทำให้เกิดพื้นที่ว่างที่เหมาะสมต่อการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (รูปที่ 1) นอกจากนี้ในกิจกรรมการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในพื้นที่ชายฝั่งยังมีการสร้างและเอื้ออำนวยสารอาหารแก่สภาพแวดล้อมผ่านทางการสร้างเมือกและขับถ่ายของเสีย (Sterner, 1989; Bracken, 2004)

สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ชายฝั่งทะเลที่มีจำนวนมากที่สุดกลุ่มหนึ่ง คือ มอลลัสก์ โดยมักอาศัยอยู่ในพื้นที่ชายฝั่งทะเลตลอดช่วงชีวิต การหลั่งเมือกของมอลลัสก์สามารถพบได้ในทุกกิจกรรมการดำรงชีวิตตลอดจนกระบวนการทางสรีระตลอดช่วงชีวิต กล่าวได้ว่ามอลลัสก์มีส่วนสำคัญอย่างมากต่อปริมาณการสร้างเมือกที่ปกคลุมทั่วทั้งระบบนิเวศชายฝั่ง อย่างไรก็ตามนอกจากความสัมพันธ์ของการใช้เมือกเป็นเครื่องมือในการดักจับสาหร่ายหน้าดินแล้ว ยังขาดแคลนการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของเมือกต่อการดำรงชีวิตสาหร่ายหน้าดินในพื้นที่ชายฝั่ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 1 การขูดกินสาหร่ายหน้าดิน (สีน้ำตาลเข้ม) ของกลุ่มทากทะเล *Onchidium* sp. ทำให้เกิดเป็นที่ว่างที่เหมาะสมต่อการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น

2.3. การเปลี่ยนแปลงแทนที่ของสังคมสิ่งมีชีวิต (community succession)

พื้นที่ชายฝั่งทะเลจัดเป็นระบบนิเวศที่มีพลวัตสูง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยแวดล้อมในแต่ละช่วงเวลาของวันอย่างสม่ำเสมอ เช่น ความเค็ม กระแสลม น้ำขึ้นน้ำลง อุณหภูมิ และการขยับและ/หรือการเคลื่อนที่ของกรวดและก้อนหิน โครงสร้างประชาคมของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศชายฝั่งจึงมีการเปลี่ยนแปลงแทนที่อยู่ตลอดเวลา โดยเฉพาะเมื่อพื้นที่อยู่อาศัยของชุมชนสิ่งมีชีวิตถูกรบกวนอย่างรุนแรงจนชุมชนสิ่งมีชีวิตเดิมไม่สามารถอยู่อาศัยได้ การเปลี่ยนแปลงแทนที่ในทางนิเวศวิทยา (ecological succession) เป็นการเปลี่ยนแปลงรูปแบบโครงสร้างประชากรสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศหลังจากการถูกรบกวนและ/หรือทำลาย โดยการเปลี่ยนแปลงแทนที่สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ การเปลี่ยนแปลงแทนที่แบบปฐมภูมิ (primary succession) และการเปลี่ยนแปลงแทนที่แบบทุติยภูมิ (secondary succession) โดยการเปลี่ยนแปลงแทนที่แบบปฐมภูมิคือการเปลี่ยนแปลงที่เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เริ่มจากบริเวณที่ไม่มีสิ่งมีชีวิตอาศัยอยู่ก่อนและถูกยึดครองโดยสิ่งมีชีวิตจำพวกแรกเป็น pioneer species ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงแทนที่แบบทุติยภูมิคือการแทนที่ของกลุ่มสิ่งมีชีวิตหนึ่งในพื้นที่เดิมที่มีประชากรสังคมสิ่งมีชีวิตอยู่ก่อนและเกิดการเปลี่ยนแปลงจากการโดน

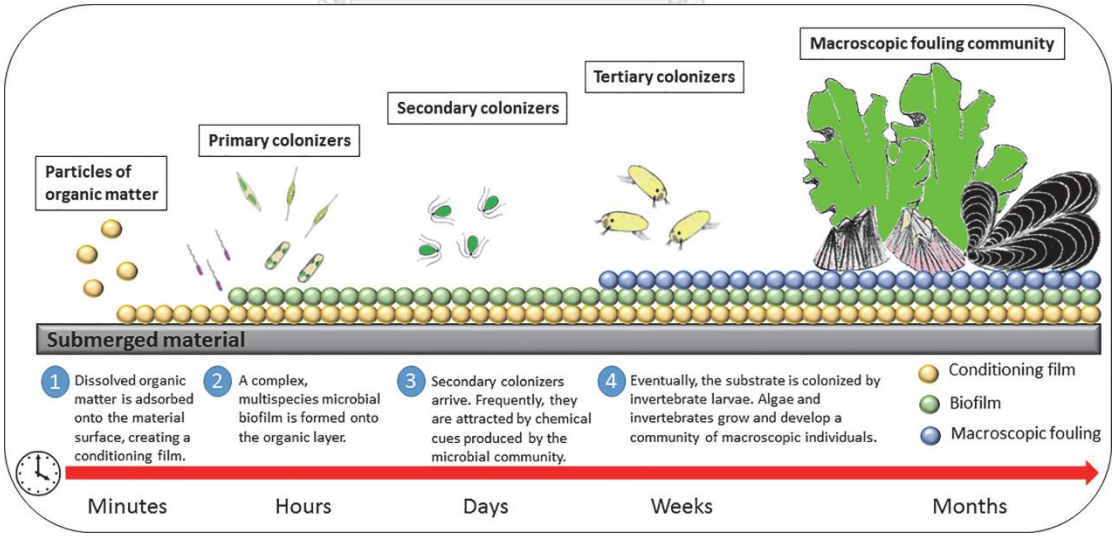
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รบกวน (disturbance) จนมวลชีวภาพของสังคมสิ่งมีชีวิตเดิมลดลง ทำให้สิ่งมีชีวิตกลุ่มใหม่สามารถเจริญเติบโตขึ้นได้

การเปลี่ยนแปลงแทนที่ในระบบนิเวศในทะเลจะเกิดขึ้นได้จำเป็นต้องมีกระบวนการลงเกาะของสิ่งมีชีวิต (biofouling) เป็นสำคัญ กระบวนการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตเป็นปรากฏการณ์ที่ซับซ้อนและเกี่ยวพันกับสิ่งมีชีวิตหลายชนิดตั้งแต่สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น แบคทีเรีย จนถึงสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังกลุ่มต่าง ๆ กระบวนการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตสามารถจำแนกย่อยออกได้เป็น 4 ระยะหลัก คือ (รูปที่ 2) (Railkin, 2003; Martín-Rodríguez *et al.*, 2015)

1. พื้นที่ว่างในระบบนิเวศทะเลมีการดูดซับ (absorption) ไอออนและอนุภาคสารอินทรีย์
2. มีการรวมกลุ่มของแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก
3. มีการรวมกลุ่มของยูคาริโอตเซลล์เดียว
4. มีการรวมกลุ่มของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ขนาดใหญ่ เช่น ตัวอ่อนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและสาหร่ายขนาดใหญ่

ดังนั้นจึงอาจพิจารณาได้ว่ากระบวนการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตมีส่วนสำคัญและเกิดขึ้นในทุกการเปลี่ยนแปลงแทนที่ตั้งแต่สิ่งมีชีวิตกลุ่ม pioneer จนถึง climax community



รูปที่ 2 กระบวนการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศทางทะเล (marine biofouling) แหล่งที่มา: (Martín-Rodríguez *et al.*, 2015)

จากการศึกษาของ Kim และคณะ (2017) พบว่าสำหรับพื้นที่ชายฝั่ง สาหร่ายสีเขียวชนิด *Ulva pertusa* มีบทบาทหน้าที่สำคัญในการเป็น pioneer species ในพื้นที่ที่โดนรบกวนอย่างรุนแรง และมีส่วนสำคัญต่อการฟื้นฟูระบบนิเวศที่โดนรบกวนจนกลับเข้าสู่สังคมชีวิตขั้นสมบูรณ์ (climax stage) อย่างไรก็ตามฤดูกาลและสาหร่าย *U. pertusa* มีส่วนสำคัญในการกำหนดระยะเวลาและรูปแบบการฟื้นฟูระบบนิเวศ โดยในฤดูร้อนที่ไม่พบการเติบโตของสาหร่าย *U. pertusa* การฟื้นฟูระบบนิเวศจึงเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วกว่าฤดูกาลอื่นเนื่องจากไม่มีการครองพื้นที่ของสาหร่ายชนิดนี้มาก ในขณะที่ในฤดูหนาวสาหร่าย *U. pertusa* มีความสามารถในการครองพื้นที่ส่วนมากจึงทำให้การฟื้นฟูของระบบนิเวศเกิดได้ช้ากว่า ดังนั้นจึงอาจพิจารณาได้ว่าสาหร่ายดังกล่าวนอกจากเป็น pioneer species แล้วยังเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการกำหนดสังคมชีวิตในระบบนิเวศได้ด้วย

บทบาทหน้าที่ของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศเป็นอีกปัจจัยสำคัญหนึ่งที่สร้างและรักษาโครงสร้างชุมชนระบบนิเวศ โดยบทบาทหน้าที่ที่มีส่วนสำคัญคือ ecosystem engineer ซึ่งหมายถึงสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญในการสร้าง การปรับเปลี่ยนและการรักษาเสถียรภาพของระบบนิเวศทั้งทางตรงและทางอ้อมเพื่อให้เหมาะสมต่อการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิตอื่นนอกเหนือจากตนเองโดยการปรับสภาพสิ่งแวดล้อมทางกายภาพและชีวภาพ ecosystem engineer สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ autogenic engineer และ allogenic engineer โดย autogenic engineer เป็นสิ่งมีชีวิตที่สร้างสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นในกลุ่มสิ่งมีชีวิต โดยใช้ร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้นเป็นส่วนประกอบสำคัญของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เช่น ปะการังมีการสร้างแนวปะการังซึ่งเป็นโครงร่างแข็งที่เป็นสารพวกหินปูน และการสะพรั่งของแพลงก์ตอนพืช (phytoplankton bloom) ในทะเลส่งผลต่อความขุ่นของน้ำทะเล ในขณะที่ allogenic engineer คือสิ่งมีชีวิตที่ปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นผ่านกิจกรรมที่เกิดขึ้นจากการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตนั้น แต่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่เป็น allogenic engineer ไม่ได้ส่งผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เช่น แพลงก์ตอนสัตว์บางชนิดหลั่งเมือกเพื่อดักจับหรือกรองกินอนุภาคอาหาร จึงส่งผลต่อการหมุนเวียนของสารอาหารในทะเล (Jones *et al.*, 1994) ดังนั้นจึงอาจพิจารณาได้ว่าบทบาทหน้าที่ที่สำคัญประการหนึ่งของ allogenic engineer คือ การส่งเสริม (facilitation) การดำรงชีวิตและการลงเกาะของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นในระบบนิเวศ โดยการส่งเสริมการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตข้างเคียง (facilitation) เป็นความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตที่การดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมในทิศทางที่เหมาะสมต่อการเติบโต การรอดชีวิต หรือการสืบพันธุ์ของ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สิ่งมีชีวิตข้างเคียงอีกชนิดหนึ่ง (Bronstein, 2009) การส่งเสริมการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตข้างเคียงในระบบนิเวศชายฝั่งสามารถพบได้ในหลายคู่ความสัมพันธ์ เช่น ความสัมพันธ์ระหว่างเพรียงหิน *Balanus glandula* กับสาหร่ายบางชนิด เช่น *Pelvetiopsis limitata*, *Fucus distichus* และ *Endocladia muricata* โดยการดำรงอยู่ของเพรียงหินดังกล่าวช่วยลด foraging activity ของหอยฝาเดียว limpet ในพื้นที่ลง และสารหลั่งจากเพรียงหินก็มีส่วนสำคัญในการปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการลงเกาะและเติบโตของสาหร่าย (Farrell, 1991) นอกจากการส่งเสริมการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตข้างเคียงโดยการปรับสภาพแวดล้อมในทางชีวภาพแล้ว การปรับสภาพแวดล้อมในทางกายภาพก็เป็นรูปแบบหนึ่งที่เกิดขึ้นในระบบนิเวศชายฝั่งเช่นกัน ในการศึกษาของ Bruno (2000) พบว่าหญ้า *Spartina alterniflora* มีส่วนส่งเสริมในการดำรงชีวิตและการสร้างสังคมประชากรพืชในพื้นที่ชายฝั่ง โดยหญ้าดังกล่าวช่วยลดความแรงของคลื่นที่เข้ามากระทบชายฝั่งลงได้อย่างมาก และยังมีบทบาทหน้าที่สำคัญในการสร้างเสถียรภาพของพื้นดินในบริเวณดังกล่าว ส่งผลให้เมล็ดพันธุ์ของพืชชนิดอื่น เช่น *Suaeda linearis* และ *Salicornia europaea* สามารถงอกและเจริญเติบโตต่อไปได้

2.4. ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก

ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กได้รับความสนใจและมีการศึกษามาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วกันว่าสาหร่ายทะเลหน้าดินขนาดเล็กมีความต้องการธาตุอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ธาตุอาหารที่สาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กต้องการแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ธาตุอาหารหลัก (macronutrients) และธาตุอาหารรอง (micronutrients) โดยธาตุอาหารหลักประกอบด้วย คาร์บอน (C) ไนโตรเจน (N) และ ฟอสฟอรัส (P) นอกจากนี้สำหรับไดอะตอมแล้วธาตุอาหารหลักที่จำเป็นอีกชนิดคือ ซิลิกอน (Si) เนื่องจากไดอะตอมนำธาตุอาหารชนิดดังกล่าวไปใช้ในกระบวนการสร้างผนังเซลล์และ frustule ของไดอะตอม (Martin-Jézéquel *et al.*, 2000) ในส่วนของธาตุอาหารรองจะประกอบด้วย trace elements เช่น เหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) แมงกานีส (Mn) เป็นต้น นอกจากนี้วิตามินก็เป็นสารอาหารสำคัญในการเพิ่มอัตราการเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กด้วยเช่นกัน โดยวิตามินที่เป็นปัจจัยหลักต่อการเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กโดยมากมี 3 ชนิด ได้แก่ cyanocobalamin thiamine และ biotin อย่างไรก็ตามวิตามินจากสิ่งแวดล้อมจำเป็นสำหรับสาหร่ายหน้าดินบางชนิดที่ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินด้วยตนเองได้เท่านั้น (Grossman, 2016) นอกจากปัจจัยด้านสารอาหารที่เป็น limiting factors แล้ว ปัจจัยทาง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กายภาพในสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กได้แก่ ปริมาณและระยะเวลาได้รับแสง pH และอุณหภูมิ โดยปริมาณและระยะเวลาการได้รับแสงจะต้องมากกว่าจุด light compensation เพื่อให้สาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กสามารถเติบโตได้ ในขณะที่หากปริมาณและความเข้มข้นแสงที่มากเกินจุดอิ่มแสง (light saturation point) จะส่งผลให้เกิด photoinhibition และทำให้เซลล์ของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กเสียหาย (Barbosa *et al.*, 2003; Suh and Lee, 2003) pH และอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีระของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก โดยในภาวะที่ pH เหมาะสม การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิช่วยส่งเสริมการทำงานของเอนไซน์ ช่วยเพิ่ม algal metabolism rate และอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก อย่างไรก็ตามเมื่ออุณหภูมิหรือ pH เพิ่มมากขึ้นจนเอนไซน์เสียหายเป็นผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง (Suzuki and Takahashi, 1995; Taraldsvik and Myklestad, 2000; Montagnes and Franklin, 2001; John *et al*., 2002) นอกจากนี้แล้วการไหลเวียนของน้ำ (water movement) ก็เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราการเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก โดยช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตในสภาวะแวดล้อมที่การขาดแคลนสารอาหารบางชนิดได้ (Orefice *et al.*, 2019)

2.5. ชีววิทยาของทากทะเล *Onchidium* sp.

ทากทะเล *Onchidium* sp. เป็นหนึ่งในสัตว์จำพวกหอยที่มีขนาดใหญ่อาศัยอยู่ในพื้นที่ชายฝั่งทะเล ทากทะเลชนิดนี้จัดอยู่ในวงศ์ Onchidiidae โดยเป็นทากที่ไม่มีเปลือกภายใน (lack of internal shell) มีรูปร่างเป็นทรงไข่ (oval shape) การแลกเปลี่ยนแก๊สจะเกิดขึ้นผ่าน “ปอด” ในโพรงแมนเทิลเป็นหลัก มีการกระจายของถิ่นที่อยู่อาศัยแทบทุกระบบนิเวศ รวมถึงนิเวศป่าชายเลนและหาดหิน (รูปที่ 3) ทากทะเลกลุ่มนี้พบมีการกระจายได้ทั่วโลก ยกเว้นเขตอาร์กติกและแอนตาร์กติกา โดยพบมากในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Dayrat, 2009; Cumming, 2013) อย่างไรก็ตามการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับทากทะเลในกลุ่มนี้ยังคงคลุมเครือทั้งในแง่เชิงนิเวศวิทยา ชีววิทยา รวมไปถึงในแง่อนุกรมวิธาน (Dayrat, 2009; Zvonareva and Kantor, 2016) การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับทากทะเลวงศ์นี้ โดยมากเน้นไปที่การศึกษาความหลากหลาย และการแพร่กระจาย (Malakar *et al*.; Arumugam *et al*., 2010; Amini *et al*., 2012; Ullah *et al*., 2015; Dayrat *et al*., 2017) การแพร่กระจายของตัวอ่อน (Cumming, 2013) และบางแง่มุมของสรีรวิทยา เช่น osmoregulation

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

(Chew *et al.*, 1999) อวัยวะรับแสงและ photoreceptors (Gotow, 1975; Nishi *et al.*, 2007; Katagiri *et al.*, 2014)

การศึกษาทากทะเล *Onchidium* spp. ได้รับความสนใจมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากทากทะเลมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงและมีสารซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญต่อการแพทย์และอุตสาหกรรมได้จากสารหลั่งและตัวทากเองได้ (Wang *et al.*, 2021) แต่อย่างไรก็ดี การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับเมือกที่ผลิตโดยทากชนิดนี้ยังมีอยู่อย่างจำกัด ทั้งในแง่ของส่วนประกอบทางชีวเคมีและผลกระทบของเมือกทากต่ออัตราการเติบโตของสาหร่ายทะเลหน้าดินขนาดเล็ก ซึ่งมีผลต่อการหมุนเวียนสารอาหารและถ่ายทอดพลังงานในระบบนิเวศชายฝั่ง

รูปที่ 3 กลุ่มของทากทะเล *Onchidium* sp. บนหาดหิน แหลมแท่น จังหวัดชลบุรี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แม้ว่าการศึกษาส่วนใหญ่เกี่ยวกับเมือกทากจะไปในแนวทางเดียวกันว่าเมือกที่หลั่งมาจากมอลลัสก์ล้วนมีสารอาหารที่มาก และจัดได้ว่าเป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก แต่องค์ความรู้เรื่องส่วนประกอบชีวเคมีของเมือกที่หลั่งมาจากทากทะเลชายฝั่งรวมถึงผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กยังมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเน้นไปที่การศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* และผลของเมือกที่ส่งผลต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม ทั้งในแง่ของความเข้มข้นของเมือกจากทากทะเล และอายุของเมือกจากทากทะเลต่ออัตราการเจริญเติบโตของเบนทิคไดอะตอม

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

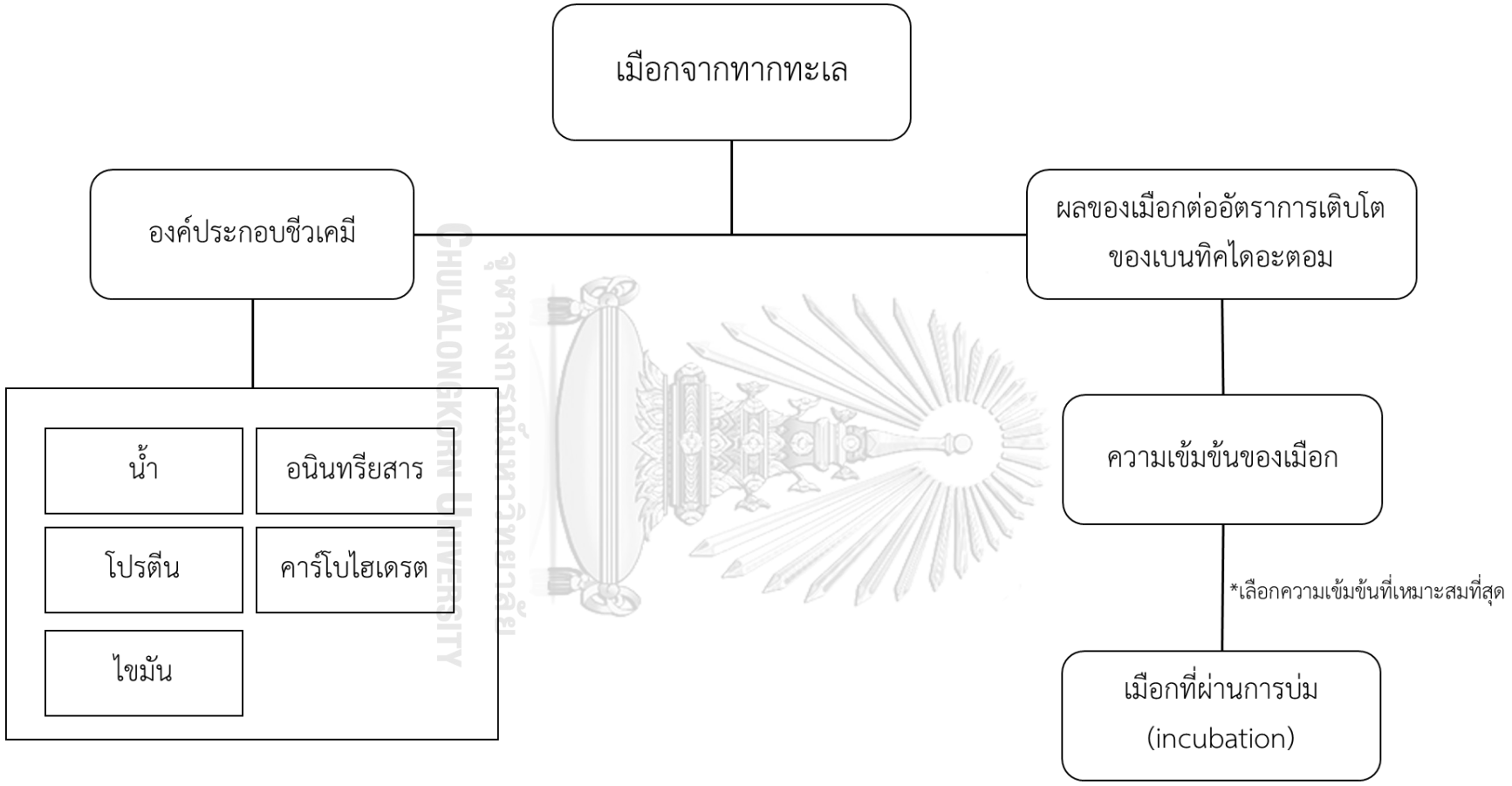
การศึกษาเมือกจากทากทะเล *Onchidium* แบ่งออกเป็น 2 การทดลองหลักดังที่แสดงในรูปที่ 4

3.1. สัตว์ทดลองและการเตรียมตัวอย่าง

3.1.1.การเก็บตัวอย่างสัตว์ทดลองและเมือก

การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติการใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์จากศูนย์สัตว์ทดลอง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (หมายเลขอนุญาติใช้สัตว์ทดลอง 1923024)

ทากทะเล *Onchidium* sp. จำนวน 30 ตัว หิน และตะกอนเก็บมาจากแหลมแท่น จังหวัดชลบุรี และมีการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง โดยมีความยาวของสัตว์ทดลองเฉลี่ยจากปลายหัวถึงท้ายลำตัวอยู่ที่ 36.15 ± 3.22 มิลลิเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 4.43 ± 0.72 กรัม สัตว์ทดลองถูกนำมาบรรจุในตู้กระจกขนาดความยาว 24 นิ้ว กว้าง 12 นิ้ว และสูง 12 นิ้วที่ถูกจัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับที่อยู่ดั้งเดิมของทากทะเลโดยใช้หินและโคลนทรายที่ถูกเก็บมาพร้อมกันและคลุมด้วยผ้าตาข่าย ห้องปฏิบัติการมีการควบคุมอุณหภูมเฉลี่ยที่ 28 ºC และมีระยะเวลาได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน น้ำทะเลเทียมความเค็ม 28 psu ภายในภาชนะบรรจุสัตว์ทดลองถูกเปลี่ยนทุก 24 ชั่วโมงเพื่อป้องกันการสะสมของของเสียที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ก่อนเริ่มการทดลองทากทะเลจะถูกปล่อยให้ปรับสภาพให้คุ้นชินกับที่อยู่อาศัยใหม่ (acclimation) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ วิธีการเก็บเมือกดัดแปลงมาจากวิธีการของ Davies *et al.* (1992a) และ Allers *et al.* (2008) โดยการเก็บเมือกจากทากทะเล *Onchidium* sp. ทากจะถูกแบ่งเป็นกลุ่มละ 10 ตัว จำนวน 3 กลุ่มซ้ำ (replication) ทากแต่ละตัวจะถูกนำมาล้างด้วยน้ำทะเลเทียมปลอดเชื้อที่ความเค็ม 28 psu ปริมาตร 5 มิลลิลิตรและนำไปวางในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที ในระหว่างทำการเก็บเมือกทาก ทากจะถูกกระตุ้นให้คืบคลานไปตามบีกเกอร์โดยการพ่นละอองน้ำทะเลเทียมอยู่เป็นระยะ เมื่อครบ 60 นาที ทากจะถูกนำออก และทำการเก็บเมือกทากโดยเติมน้ำทะเลเทียมความเค็ม 28 psu ปริมาตร 20 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์ และทำการเขย่าเป็นเวลา 15 นาที เพื่อการชะเมือกทั้งหมดออกจากบีกเกอร์ เมือกที่เก็บจะถูกรักษาสภาพก่อนนำมาทำการทดลองโดยการเก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 ºC



รูปที่ 4 แผนผังการศึกษาเมือกจากทากทะเล *Onchidium* แบ่งออกเป็น 2 การทดลองหลักคือ องค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล และ ผลของเมือกต่ออัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม

3.1.2.<u>การคัดเลือกและเพาะสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก</u>

วิธีการคัดแยกและเลือกสปีชีส์ของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กทำตามวิธีการของ Andersen (2005) โดยทำการเก็บน้ำผิวดินและดินจากพื้นที่เก็บตัวอย่างมาพร้อมกับสัตว์ทดลอง ไดอะตอมและสิ่งมีชีวิตหน้าดินขนาดเล็กถูกคัดแยกและเลือกโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสง ไดอะตอมที่มี relative abundance มากที่สุด 3 ชนิดถูกเลือกและคัดแยกประกอบด้วย *Navicula* sp., *Nitzschia* sp., และ *Thalassiosira* sp.จากนั้นจึงนำเบนทิคไดอะตอมทั้ง 3 ชนิดมาเพาะเป็นหัวเชื้อ (stock) ด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน T1 (Ogata *et al.*, 1987) ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร หัวเชื้อของไดอะตอมทั้ง 3 ชนิดถูกเพาะในสภาพแวดล้อมควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ºC ความเค็ม 28 psu ภายใต้ความเข้มแสง 54 mmol photons m^{-2} s^{-1} เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน

3.2. องค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากทาก *Onchidium*

ปริมาณน้ำในเมือกจากทากทะเลทำการคำนวณโดยนำตัวอย่างเมือกชั่งน้ำหนักเริ่มต้น (wet weight) จากนั้นนำตัวอย่างเมือกที่ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปกำจัดน้ำโดยวิธีการ freeze dry คำนวณปริมาณน้ำจากความแตกต่างของน้ำหนักเมือกตั้งต้น ปริมาตรน้ำที่ถูกเพิ่มเข้าไป (added water) กับน้ำหนักเมือกที่ผ่านการแช่แข็งแห้ง (freeze-dried weight) โดยคำนวณได้จากสูตร:

$$\%water = \frac{(\text{wet weight - added water - freeze-dried weight})}{\text{wet weight - added water}} \times 100$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ความเข้มข้นของโปรตีนในเมือกตัวอย่างถูกวัดปริมาณโดยใช้ Coomassie (Bradford) assay kit โดยนำตัวอย่างเมือกปริมาณ 20 มิลลิลิตร ผสมกับ 80% เอทานอลแล้วนำไปปั่นเหวี่ยง เติม 1.0 N NaOH ในตัวอย่าง ตัวอย่างปริมาตร 5 ไมโครลิตร ถูกตวงลงใน 96 well-plates ก่อนจะเติม Coomassie reagent ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างแต่ละช่อง ไมโครเพลทถูกเขย่าเป็นเวลา 30 วินาที และทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมี ก่อนนำไปอ่านด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (Microplate Reader) ที่ความยาวคลื่น 595 nm ปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนในเมือกตัวอย่างถูกคำนวณเทียบกับปริมาณความเข้มข้นโปรตีนที่ทราบแน่ชัดโดยเตรียมจาก Bovine serum albumin มาตรฐาน (Bio-Rad).

ตัวอย่างเมือกจากทากทะเลถูกวัดปริมาณความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตโดยดัดแปลงวิธีการจาก Dubois *et al*. (1956) และ Masuko *et al.* (2005) เมือกตัวอย่างถูกแบ่งใส่ 96-well microplate ช่องละ 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติมด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 150 ไมโครลิตร และสารละลายฟีนอล 5% ปริมาตร 30 ไมโครลิตรอย่างรวดเร็ว ไมโครเพลทถูกนำไปอุ่นที่อ่างแช่ปรับอุณหภูมิเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 90 ºC ก่อนลดอุณหภูมิลงโดยการแช่ในอ่างน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที ความเข้มข้นของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในเมือกตัวอย่างถูกวัดด้วยวิธี spectrophotometry โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท ที่ความยาวคลื่น 490 nm เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นคาร์โบไฮเดรตกับสายละลายกลูโคสมาตรฐาน (Unilab)

วิธีการวัดปริมาณไขมัน ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Li และคณะ (2015) โดยเมือกตัวอย่างถูกนำไปทำการแช่แข็งแห้งเพื่อทำการกำจัดน้ำ จากนั้นผงเมือกที่ผ่านการ freeze dried นำมาชั่งน้ำหนักตั้งต้นที่ปริมาณ 25 มิลลิกรัม (W) ก่อนนำผงเมือกไปละลายในสารละลายคลอโรฟอร์มกับเมทานอล (2:1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วตั้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสารละลายตัวอย่างถูกนำไปปั่นเหวี่ยงก่อนดูดสารละลายชั้นบนด้วยปิเปตพลาสติกแล้วย้ายไปใส่ในหลอดทดลองที่ทราบค่าน้ำหนัก (W_1) ตะกอนตัวอย่างถูกนำไปละลายในสารละลายคลอโรฟอร์มกับเมทานอล (2:1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง สายละลายชั้นบนของสารละลายตัวอย่างทั้งสองครั้งถูกนำมารวมกันแล้วนำไปอบแห้งด้วยเตาอบที่อุณหภูมิ 70 ºC ก่อนชั่งน้ำหนักสุดท้าย (W_2) ปริมาณไขมันทั้งหมดถูกคำนวณด้วยสูตร:

$$\text{Total lipid content } (\%\text{ dry weight}) = \frac{(W_2 - W_1)}{W} \times 100$$

ปริมาณอนินทรียสารถูกคำนวณจากความแตกต่างของน้ำหนักผงเมือกตัวอย่างที่ผ่านการแช่แข็งแห้งกับน้ำหนักของเถ้าผงเมือกตัวอย่างที่โดนเผาด้วยเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 ºC เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ปริมาณอนินทรียสารถูกคำนวณด้วยสูตร:

Total inorganic content= initial weight - ashed weight

3.3. ผลของเมือกที่มีต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม

การศึกษาเรื่องผลของเมือกที่มีผลต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอมจะแบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย ดังที่แสดงในรูปที่ 4

3.3.1. <u>การทดลองที่ 1: ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเมือกจากทากทะเลต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม</u>

เพื่อศึกษาความเข้มข้นของเมือกที่เหมาะสมต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม เมือกจากทากทะเล *Onchidium* ถูกปรับอัตราส่วนความเข้มข้นในน้ำทะเล โดยเมือกจากทากทะเลถูกกรองด้วยกระดาษกรอง (GF/C, Whatman®, pore size 1.2 μm) ก่อนนำไปผสมกับน้ำทะเลเทียมด้วยอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 4 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ซ้ำ แบ่งเป็นความเข้มข้น 100%, 75%, 50%, 25% และ 0% (ชุดควบคุม) ของเมือกทากในน้ำทะเลเทียม โดยในทุกกลุ่มจะผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้ออบความดัน (autoclave) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงและอยู่ในอุณหภูมิ 25 ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำไปเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเบนทิคไดอะตอม

3.3.2. <u>การทดลองที่ 2: ผลของเมือกทากที่ผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลงต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม</u>

เพื่อศึกษาผลของเมือกทากที่ผ่านช่วงเวลาน้ำขึ้น-น้ำลงในแต่ละระยะเวลาต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม เมือกจากทากทะเลจึงทำการบ่มผ่านชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลง (รูปที่ 5) เป็นระยะเวลาที่แตกต่างกัน ชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลงถูกดัดแปลงมาจากวิธีการของ Davies *et al.* (1992a) โดยในชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลง เมือกจากทากทะเล *Onchidium* ถูกบรรจุในกล่องพลาสติกขนาด 27 x 37 x 15 เซนติเมตร (กว้าง x ยาว x สูง) น้ำทะเลเทียมความเค็ม 28 psu ถูกเติมจากภาชนะบรรจุน้ำทะเลเทียมด้านบนของกล่องบรรจุตัวอย่างและน้ำจากกล่องบรรจุตัวอย่างถูกถ่ายออกจากฝั่งด้านล่าง อัตราการไหลของน้ำอยู่ที่ 0.25 มิลลิลิตร/วินาที ทั้งเติมเข้าและถ่ายออก โดยรอบน้ำขึ้น-น้ำลงอ้างอิงจากแหล่งที่เก็บตัวอย่างมาคือ 12 ชั่วโมงน้ำขึ้นและ 12 ชั่วโมงน้ำลง เมือกจากทากทะเล *Onchidium* ถูกบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลงในช่วงระยะเวลาแตกต่างกันโดยแบ่งเป็น 0 (0 ชั่วโมง), 1 (24 ชั่วโมง), 2 (48 ชั่วโมง), 4 (96 ชั่วโมง) และ 8 (192 ชั่วโมง) รอบน้ำขึ้น-น้ำลง โดยในที่นี้จะกำหนดให้เป็น T0,

T1, T2, T4 และ T8 ตามลำดับ หลังจากเมือกตัวอย่างถูกบ่มตามเวลาที่กำหนด เมือกตัวอย่างถูกนำมากรองด้วยด้วยกระดาษกรอง (GF/C, Whatman®, pore size 1.2 μm) และนำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้ออบความดันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นปรับให้อยู่ในอุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมือกตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการทั้งหมดจะแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลองซ้ำก่อนนำไปเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเบนทิคไดอะตอม

เบนทิคไดอะตอมทั้งสามชนิดถูกนำมาเลี้ยงด้วยเมือกจากทากทะเลในทั้งสองการทดลอง เบนทิคไดอะตอมทุกการทดลองถูกเพาะในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยมีปริมาณจำนวนเซลล์ตั้งต้นที่ 100 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในสภาพแวดล้อมควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C ความเค็ม 28 psu ภายใต้ความเข้มแสง 54 mmol photons m^{-2} s^{-1} 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ตลอดการทดลอง

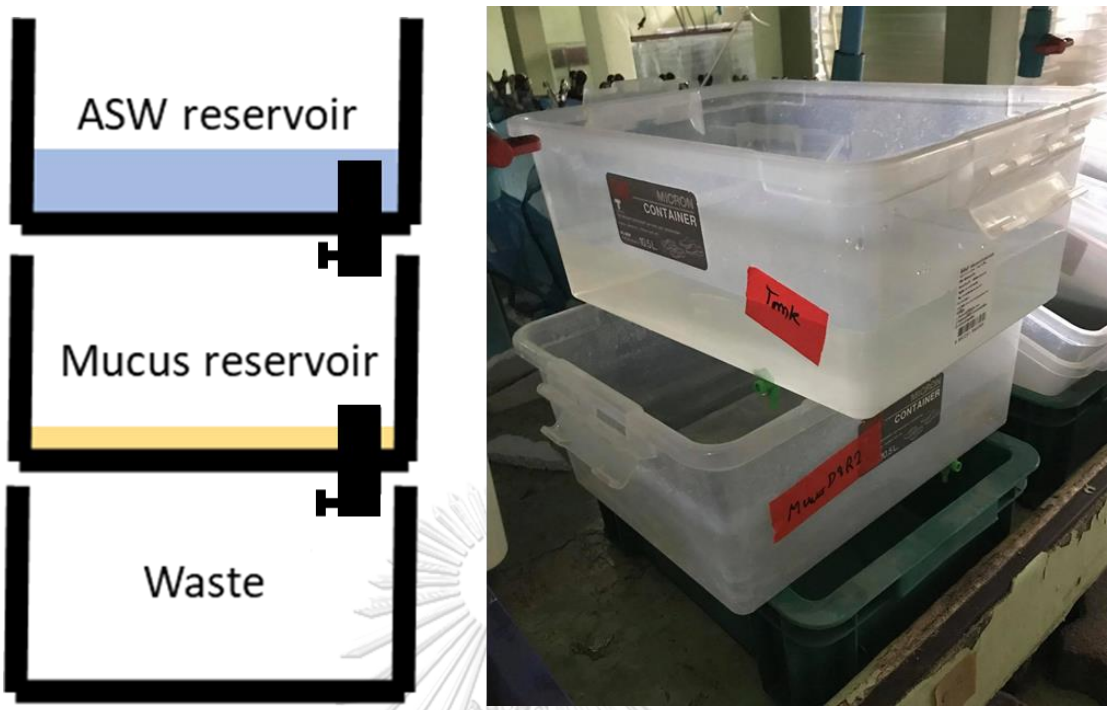
การวัดอัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอมโดยเบนทิคไดอะตอมในทุกชุดการทดลองถูกสุ่มออกมา 1 มิลลิลิตร ในทุก ๆ 2 วัน แล้วทำการรักษาสภาพด้วย 2% ฟอร์มาลีน จำนวนเซลล์ของเบนทิคไดอะตอมถูกนับโดยใช้สไลด์นับแพลงก์ตอน Sedgewick Rafter และกล้องจุลทัศน์ Leica ICC50 W Microscope กำลังขยาย 400 เท่า อัตราการเติบโตของเบนทิคไดอะตอมทุกชนิดถูกคำนวณจากสูตรคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Guillard, 1973) โดยนิยามค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (*r*) คือการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ต่อหน่วยเวลา ตามสูตร :

$$r = \frac{ln(N_t - N_0)}{\Delta t}$$

เมื่อ *r* แสดงถึงอัตราการเปลี่ยนแปลงต่อหน่วยเวลา (t^{-1}), N_0 แทนขนาดจำนวนประชากรตั้งต้นในช่วงเวลาที่ถูกเลือก, N_t แทนขนาดจำนวนประชากรท้ายสุดของช่วงเวลาที่ถูกเลือก และ Δt แทนปริมาณความยาวของช่วงเวลาที่ถูกเลือก (t_t-t_0) ซึ่งค่าอัตราการเจริญจำเพาะแสดงถึงการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ต่อช่วงเวลา

3.4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญจำเพาะในแต่ละชุดการทดลองถูกวิเคราะห์โดยใช้ one-way ANOVA และ Tukey's test สำหรับ *post hoc* multiple comparison ความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญจะถูกยอมรับเมื่อ $P < 0.05$



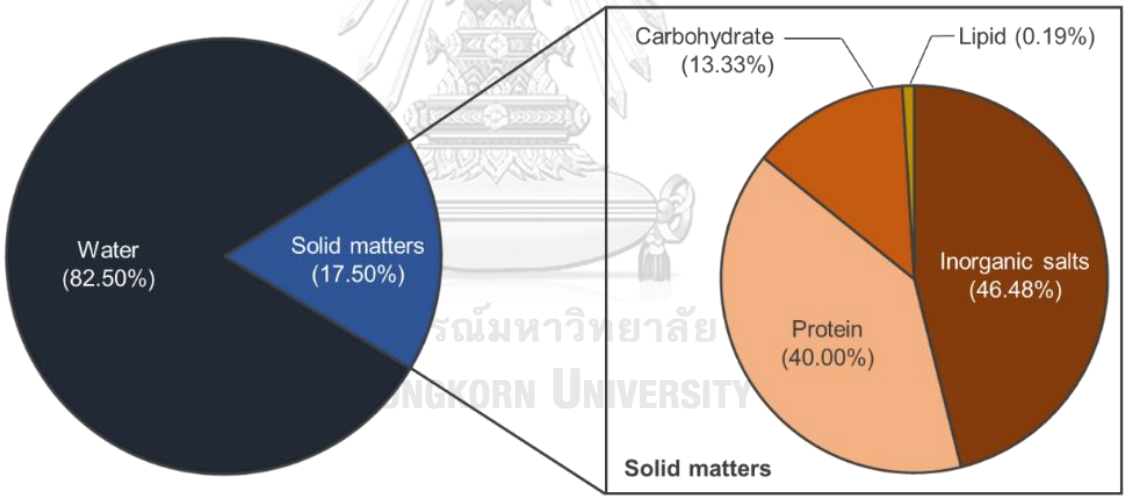
รูปที่ 5 แผนภาพชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลง (ซ้าย) และ ชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลง (ขวา)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการศึกษา

ผลองค์ประกอบชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล *Onchidium*

องค์ประกอบของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* ที่มีปริมาณมากที่สุดคือ น้ำ โดยมีสัดส่วนคิดเป็น 82.50% ต่อน้ำหนักทั้งหมดดังที่แสดงในรูปที่ 6 เมื่อทำการกำจัดน้ำออกด้วยวิธีการ freeze dry องค์ประกอบที่นอกเหนือจากน้ำอยู่ในรูปของแข็ง องค์ประกอบทางชีวเคมีของของแข็งประกอบด้วยเกลืออนินทรีย์ 46% ของหนักแห้งและมีสารอินทรีย์รวม 53.52% สารอินทรีย์ประกอบด้วยโปรตีนเข้มข้น 0.42 ± 0.29 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (40%) ในขณะที่คาร์โบไฮเดรตมีความเข้มข้นอยู่ที่ 0.14 ± 0.057 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (13.33%) และองค์ประกอบไขมันในเมือกจากทากทะเลมีเพียง 0.002 ± 0.0006 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (0.19%)

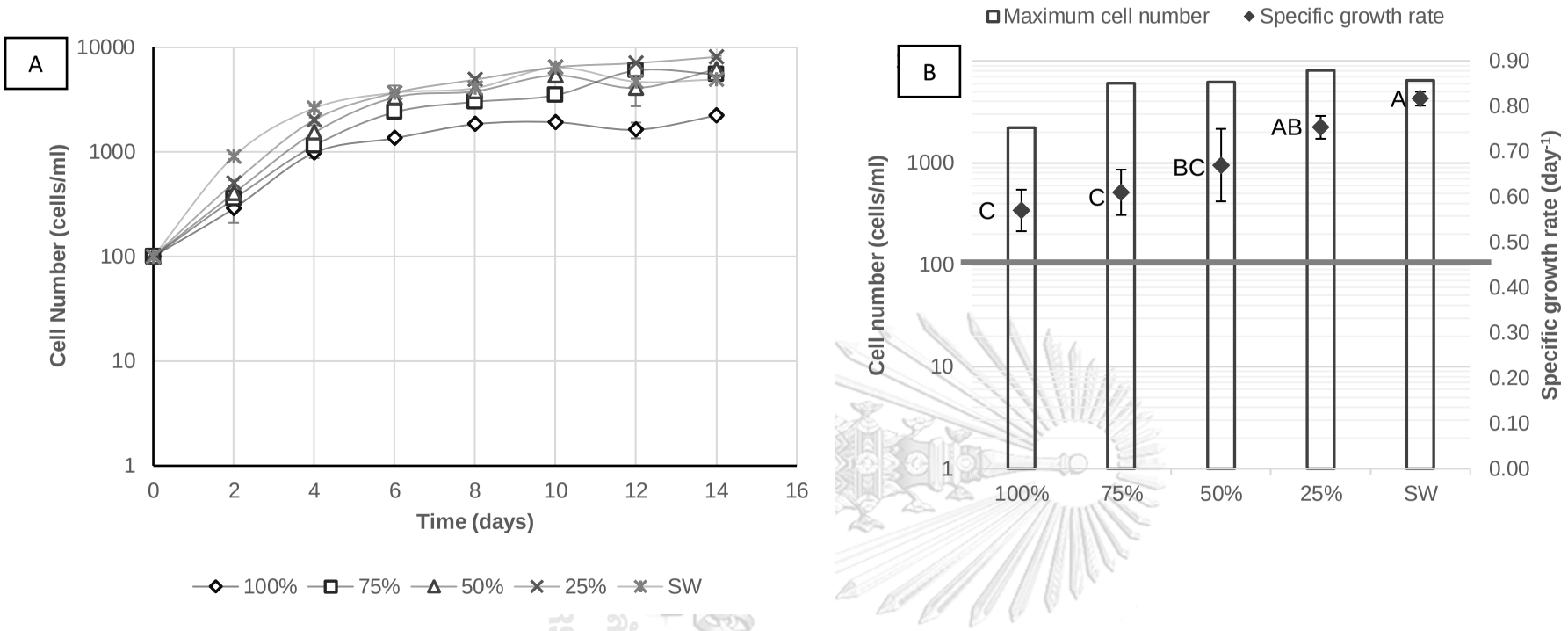


รูปที่ 6 องค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* sp.

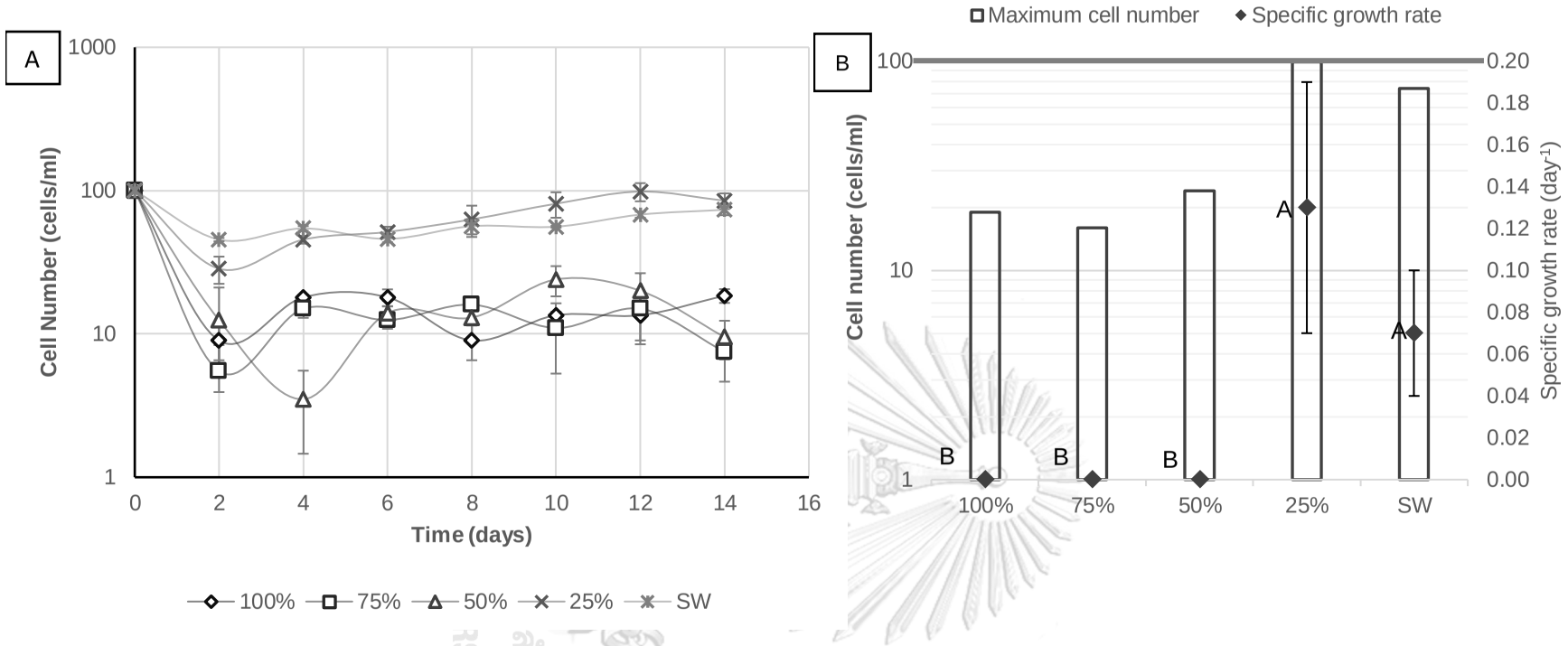
ผลของการเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของเมือกจากทากทะเลต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม

เมื่อทำการเลี้ยงเบนทิคไดอะตอมด้วยเมือกจากทากทะเล *Onchidium* ในต่างความเข้มข้นกันพบว่าเบนทิคไดอะตอมทั้ง 3 ชนิดมีอัตราการเติบโตสูงที่สุดเมื่อถูกเพาะด้วยเมือกที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุด โดยสำหรับ *Navicula* sp. อัตราการเติบโตของไดอะตอมมีค่าสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงด้วยน้ำทะเล (ชุดควบคุม) และเมือกทากความเข้มข้น 25% ในน้ำทะเล ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น ($p<0.05$) ดังที่แสดงในรูปที่ 7A และรูปที่ 7B และเมือกทากความเข้มข้น 25% ในน้ำทะเลส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของ *Nitzschia* sp. ได้ดีที่สุดเช่นกัน ในขณะเดียวกันเมือกทากที่มีความเข้มข้นที่สูงขึ้นมากกว่า 25% ในน้ำทะเลส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของไดอะตอมทั้งสองชนิดในทิศทางเดียวกัน คืออัตราการเติบโตของไดอะตอม (*Navicula* sp.) ลดลงตามความเข้มข้นของเมือกทากที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 7A และรูปที่ 7B หรือแม้กระทั่งยับยั้งการเติบโตของไดอะตอม (*Nitzschia* sp.) ดังแสดงในรูปที่ 8A และรูปที่ 8B อย่างไรก็ตามอัตราการเติบโตของ *Thalassiosira* sp. ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* ในน้ำทะเล ($p>0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 9A และรูปที่ 9B

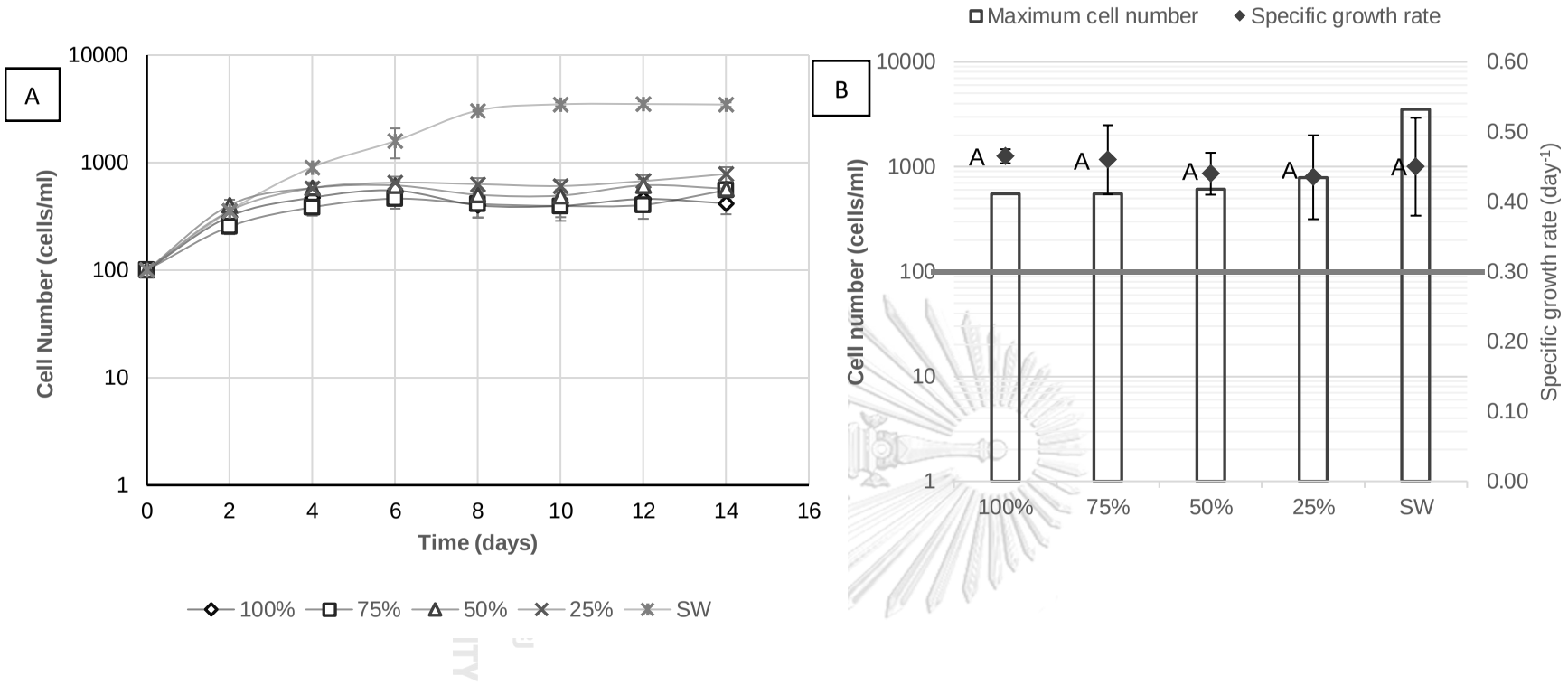
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 7 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(◆) ของ *Navicula* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน แบ่งเป็น 100%, 75%, 50%, 25% และ น้ำทะเลเป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 8 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(◆) ของ *Nitzschia* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน แบ่งเป็น 100%, 75%, 50%, 25% และ น้ำทะเลเป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

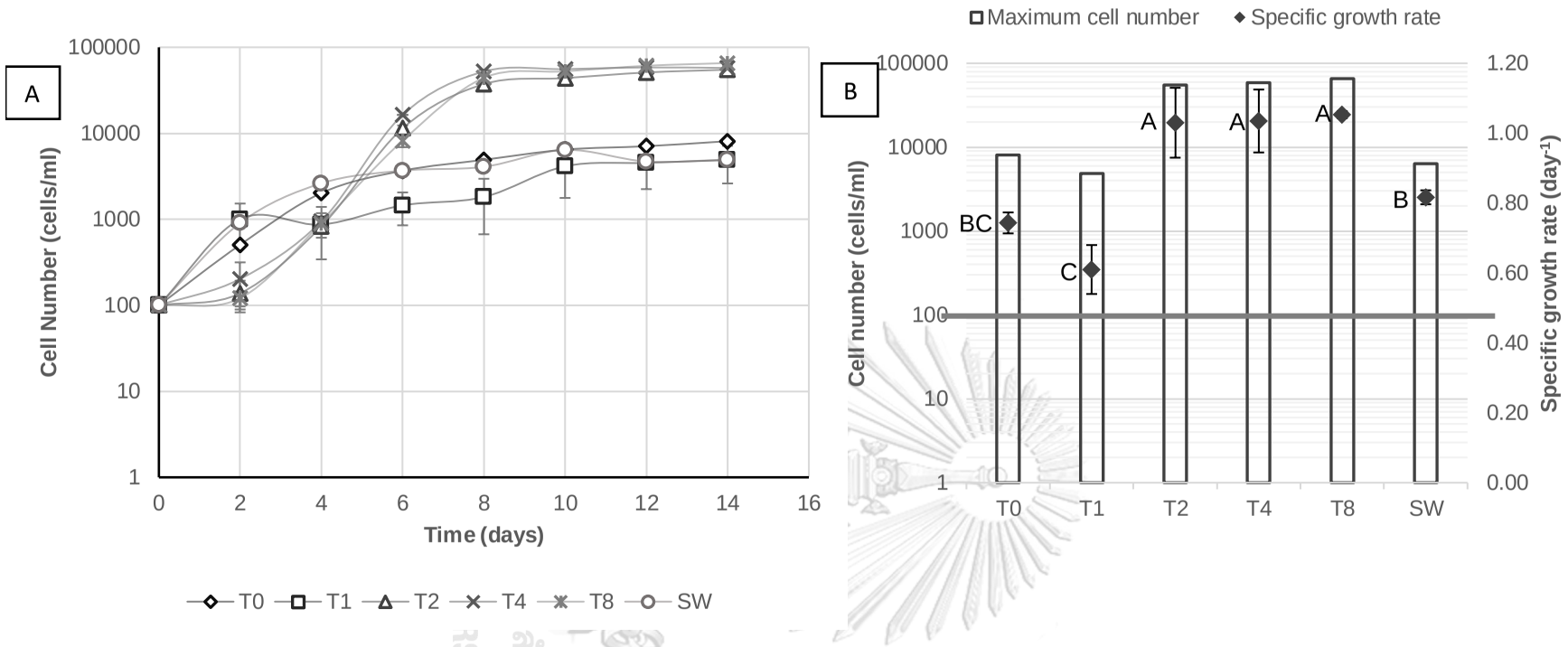


รูปที่ 9 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(◆) ของ *Thalassiosira* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน แบ่งเป็น 100%, 75%, 50%, 25% และ น้ำทะเลเป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

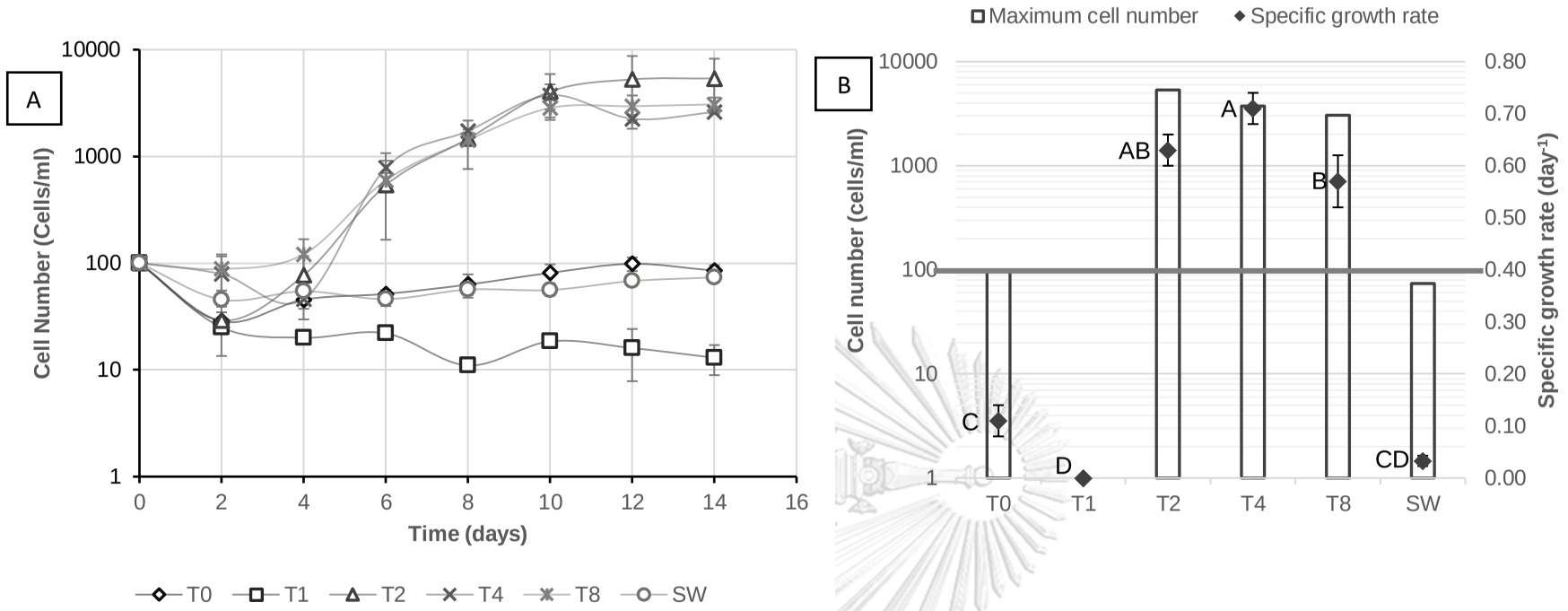
ผลของเมือกทากที่ผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้น-น้ำลงต่อการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม

อ้างอิงจากผลการทดลองก่อนหน้า พบว่า ความเข้มข้นของเมือกทากในน้ำทะเลที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเบนทิคไดอะตอมทั้งสามชนิดคือ เมือกจากทากทะเลเข้มข้น 25% ในน้ำทะเล เมื่อเมือกจากทากทะเลผ่านการบ่มตามระยะเวลาที่กำหนดในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลงแล้วจึงนำมาปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมตามวิธีการที่กล่าวไปข้างต้น อัตราการเจริญเติบโตของ *Navicula* sp. มีค่าสูงที่สุดเมื่อเพาะด้วยเมือกทากที่บ่มนานกว่า 48 ชั่วโมง (T2, T4, และ T8) ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตของไดอะตอมชนิดนี้เมื่อเพาะด้วยเมือกที่ไม่ผ่านการบ่ม (T0) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการเพาะด้วยน้ำทะเล (ชุดควบคุม) ในทางตรงกันข้าม อัตราการเติบโตของ *Navicula* sp. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพาะด้วยเมือกที่ผ่านการบ่ม 24 ชั่วโมง (T1) ดังที่แสดงที่รูปที่ 10A และรูปที่ 10B ผลของเมือกจากทากทะเลที่ผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลงดังกล่าวมีแนวโน้มคล้ายคลึงกับอัตราการเจริญเติบโตของ *Nitzschia* sp. โดยการเจริญเติบโตของไดอะตอมที่ถูกเพาะด้วยเมือกที่ไม่ผ่านการบ่ม (T0) มีอัตราการเจริญเติบโตเทียบเท่ากับการเพาะด้วยน้ำทะเล (ชุดควบคุม) และเมื่อเพาะด้วยเมือกที่ผ่านการบ่ม 24 ชั่วโมง (T1) อัตราการเจริญของไดอะตอมชนิดนี้ลดลงจนไม่สามารถคำนวณอัตราการเจริญเติบโตได้ ในขณะที่เมือกที่ผ่านการบ่มมากกว่า 48 ชั่วโมงจนถึง 192 ชั่วโมง (T2, T4, และ T8) กลับให้ผลลัพธ์ที่แตกต่างจากข้างต้น อัตราการเจริญเติบโตของ *Nitzschia* sp. เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อถูกเพาะด้วยเมือกดังกล่าว ($p<0.05$) และจำนวนเซลล์สูงสุดของไดอะตอมยังเพิ่มขึ้นจนมากกว่าจำนวนเซลล์ตั้งต้นซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมดังที่แสดงในรูปที่ 11A และรูปที่ 11B อย่างไรก็ตามอัตราการเจริญเติบโตของ *Thalassiosira* sp. ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) ดังที่แสดงในรูปที่ 12A และรูปที่ 12B

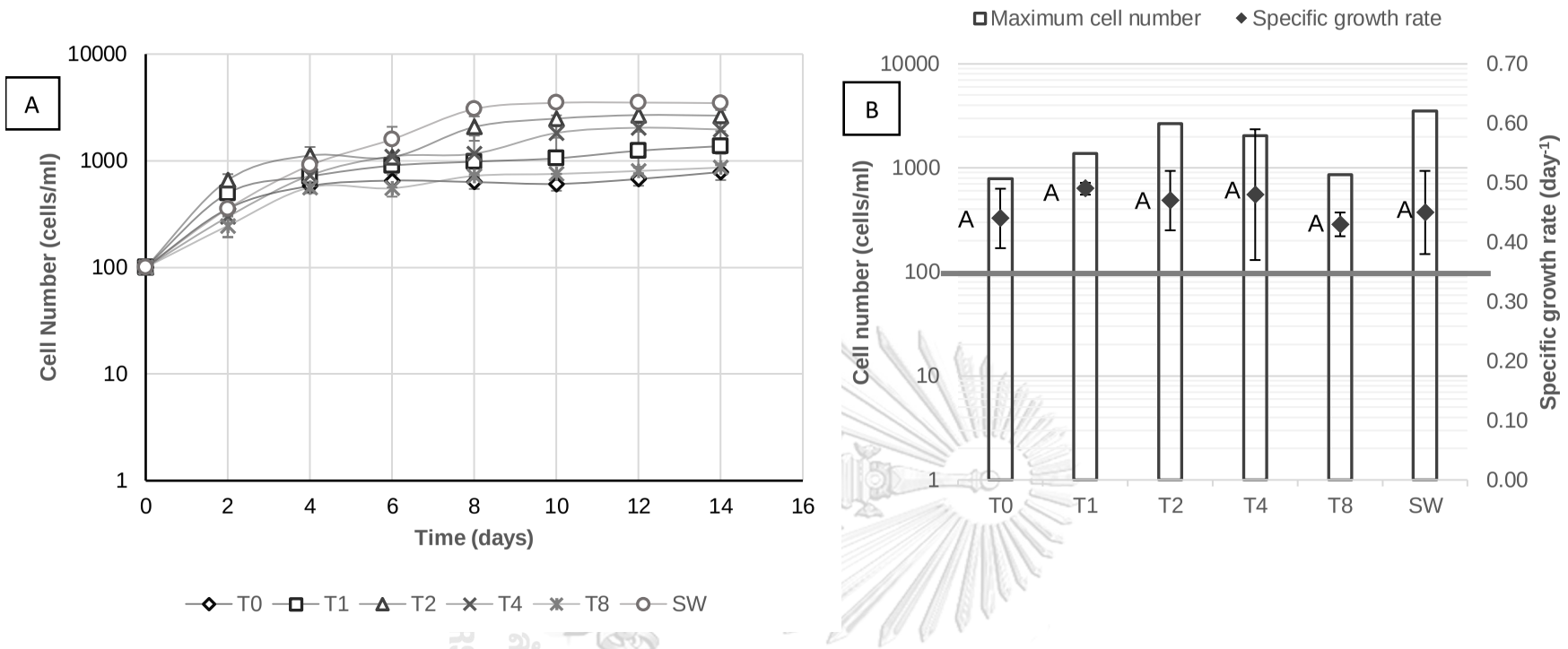
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 10 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(♦) ของ *Navicula* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลง ตั้งแต่ 0, 1, 2, 4, และ 8 รอบน้ำขึ้นน้ำลง ซึ่งแทนที่ด้วยสัญลักษณ์ T0, T1, T2, T4, และ T8 ตามลำดับ โดยมี SW เป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 11 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(◆) *Nitzschia* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลง ตั้งแต่ 0, 1, 2, 4, และ 8 รอบน้ำขึ้นน้ำลง ซึ่งแทนที่ด้วยสัญลักษณ์ T0, T1, T2, T4, และ T8 ตามลำดับ โดยมี SW เป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 12 กราฟการเติบโตของเบนทิคไดอะตอม (A), กราฟแท่งจำนวนเซลล์เบนทิคไดอะตอมสูงสุด (B), และค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(◆) ของ *Thalassiosira* sp. ในแต่ละกลุ่มการทดลองถูกเลี้ยงด้วยเมือกที่มีผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลง ตั้งแต่ 0, 1, 2, 4, และ 8 รอบน้ำขึ้นน้ำลง ซึ่งแทนที่ด้วยสัญลักษณ์ T0, T1, T2, T4, และ T8 ตามลำดับ โดยมี SW เป็นกลุ่มควบคุม Error bar แสดง standard error เส้นสีเทาแสดงจำนวนเซลล์ตั้งต้นการทดลองและตัวอักษรเหนือกราฟแสดงกลุ่มความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษานี้พบว่าส่วนประกอบหลักของเมือกจากทากทะเล *Onchidium* ประกอบด้วยน้ำ 80% ของน้ำหนักเปียก ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจากสิ่งมีชีวิตในทะเลหลายชนิด (Connor, 1986; Davies and Hawkins, 1998; Stabili *et al.*, 2011; Stabili *et al.*, 2019) สัดส่วนของน้ำในเมือกจากสิ่งมีชีวิตมีปริมาณที่แตกต่างกันตามแต่ละ

สปีชีส์ ซึ่งมีตั้งแต่ 81.4% ของน้ำหนักเปียกของเมือกจากมอลลัสก์ *Nucella emarginata* (Connor, 1986) จนถึงเมือกที่ประกอบด้วยน้ำ 96% ของน้ำหนักเปียกจากเมือกไส้เดือนทะเล *Sabella spallanzanii* (Stabili *et al.*, 2011) ในส่วนขององค์ประกอบที่เป็นอนินทรียสารซึ่งมีสัดส่วนมากที่สุดจากน้ำหนักแห้งคาดว่าเป็นผลมาจากเกลืออนินทรีย์เป็นหลัก (Smith *et al.*, 1999; Smith and Morin, 2002; Stabili *et al.*, 2019) ปริมาณสัดส่วนองค์ประกอบอนินทรียสารนั้นมีความแตกต่างจำเพาะไปตามสปีชีส์ เช่น เมือกจากหอยน้ำพริก *Littorina littorea* และ *Littorina obtusata* มีสัดส่วนองค์ประกอบอนินทรียสารในเมือกเกือบครึ่งหนึ่งของน้ำหนักแห้ง (Connor, 1986; Davies *et al.*, 1990b) แตกต่างกับเมือกจากหอยฝาเดียว *Nucella emarginata* (Connor, 1986), ไส้เดือนทะเล *Sabella spallanzanii* (Stabili *et al.*, 2011), และไส้เดือนทะเล *Myxicola infundibulum* (Stabili *et al.*, 2019) ที่มีองค์ประกอบอนินทรียสารเป็นสัดส่วนมากกว่า 60% ของน้ำหนักแห้ง (Smith *et al.*, 1999; Smith and Morin, 2002; Stabili *et al.*, 2011) นอกจากนี้การศึกษาของ Davies *et al.* (1990b) แสดงให้เห็นว่าสัดส่วนของอนินทรียสารสามารถแปรผันได้ตามฤดูกาลและช่วงเวลาที่มีการสืบพันธุ์ โดยจากการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของเมือกจาก *Patella vulgate* พบว่าปริมาณสัดส่วนของอนินทรียเพิ่มขึ้นสูงสุดในช่วงฤดูใบไม้ผลิ (พฤษภาคม) ซึ่งเป็นช่วงเวลาเดียวกับที่ระบบสืบพันธุ์อยู่ในช่วงกำลังพัฒนาเพื่อสืบพันธุ์ในฤดูกาลถัดไป องค์ประกอบที่เป็นส่วนประกอบหลักในส่วนของอินทรียสาร คือ องค์ประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต (Protein-carbohydrate complex) (Davies and Hawkins, 1998; Smith and Morin, 2002; Pawlicki *et al.*, 2004) ซึ่งสามารถพบได้ในเมือกของสิ่งมีชีวิตในทะเลหลายสายพันธุ์ เช่น ปะการัง

แข็งและปะการังอ่อน (Meikle *et al.*, 1988) ไส้เดือนทะเล *Sabella spallanzanii,* (Stabili *et al.*, 2011) ปลิงทะเล *Holothuria forskali* (DeMoor *et al.*, 2003) หอยน้ำพริก (periwinkle) *Littorina irrorata* (Smith and Morin, 2002) และหอยฝาเดียว *Lottia limatula* (Smith *et al.*, 1999) ปริมาณสัดส่วนของอินทรียสารจำพวกโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตนอกจากจะมีความจำเพาะกับสปีชีส์แล้วยังอาจมีความแตกต่างกันไปตามแต่การใช้งานหรือวัตถุประสงค์ของการหลั่งเมือก จากการศึกษาที่ผ่านมาขององค์ประกอบทางชีวเคมีในเมือกที่ใช้ในการเคลื่อนที่และเมือกที่ใช้ในการยึดเกาะจากหอยน้ำพริก *Littorina irrorata* (Smith and Morin, 2002), ทาก *Arion subfucus*, และหอยทากบก *Helix aspersa* (Pawlicki *et al.*, 2004) มีความแตกต่างกันของปริมาณสัดส่วนโปรตีนต่อคาร์โบไฮเดรต เมือกมอลลัสก์ที่ใช้ในการเคลื่อนที่มีส่วนประกอบหลักเป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่และมีโปรตีนจำนวนน้อยกว่า ในขณะที่เมือกที่ใช้ในการยึดเกาะหรืออยู่กับที่มีปริมาณโปรตีนมากกว่าเมือกที่ใช้ในการเคลื่อนที่ประมาณ 2.7 เท่า แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในสัดส่วนคาร์โบไฮเดรต (Smith and Morin, 2002) สำหรับลิพิดจะจัดเป็นองค์ประกอบอินทรียสารที่มีปริมาณสัดส่วนน้อยที่สุดในเมือกจากทากทะเล *Onchidium* คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 0.2% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นสัดส่วนตรงกับการศึกษาที่ผ่านมาในเมือกจากมอลลัสก์ที่กล่าวมาข้างต้น

การศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีและการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ (nutritional values) ในสารหลั่งจากสิ่งมีชีวิตในทะเลมีส่วนสำคัญในองค์ความรู้เรื่องการหมุนเวียนสารอาหารและผลกระทบต่อระบบนิเวศ เมือกหลั่งจากทากทะเล *Onchidium* ซึ่งมีส่วนประกอบของอินทรียสารปริมาณมาก มีแนวโน้มที่สามารถเป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมต่อการลงเกาะและเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก (biofouling) จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการในเมือกที่หลั่งจากปะการังบางชนิด เช่น *Oculina arbuscula* (Coddeville *et al.*, 2011), *Fungia* sp. (Allers *et al.*, 2008), *Sarcophyton cf glaucum* และ *Acropora cf formosagrandis* (Vacelet and Thomassin, 1991) ถูกพบว่าเมือกจากปะการังเป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมต่อการลงเกาะและการรวมกลุ่มกันของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในลักษณะจำเพาะต่อชนิด (species-specific) เช่น แบคทีเรีย และสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิด (Brown and Bythell, 2005) อย่างไรก็ตามเมือกที่หลั่งจากสิ่งมีชีวิตบางชนิดมีคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสมต่อการเป็นแหล่งสารอาหารให้แก่สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น เมือกจากไส้เดือน

ทะเล *Sabella spallanzanii* เนื่องจากมีส่วนประกอบเป็นอนินทรียสารปริมาณมากและมีปริมาณอินทรียสารที่ค่อนข้างต่ำ (Stabili *et al.*, 2011)

นอกจากคุณค่าทางโภชนาการของเมือกแล้ว คุณสมบัติทางกายภาพก็ส่งผลกระทบโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตของสาหร่ายและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก โดยทั่วไปแล้วสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ในน้ำ เช่น แพลงก์ตอน สัตว์น้ำวัยอ่อน และโพรทิสต์ จะได้รับผลกระทบจากภาวะที่มีค่า Reynold number (*Re*) ต่ำ ซึ่งเป็นภาวะที่แรงหนืด (viscous force) มีค่ามากกว่าแรงเฉื่อย (inertial force) โดยส่งผลต่อการดูดซึมสารอาหาร การพบเจออนุภาคอาหาร การกำจัดของเสีย และการสืบพันธุ์ (Guadayol *et al.*, 2021) การเพิ่มความหนืดในระบบนิเวศทางน้ำที่เป็นผลมาจากสารหลั่งของสิ่งมีชีวิตอาจนำไปสู่การเพิ่มอัตราการตายของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ความหนืดของน้ำเป็นผลมาจากทั้งปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม และ สารหลั่งจากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก (Petkov and Bratkova, 1996; Seuront *et al.*, 2006) สาหร่ายขนาดเล็กบางชนิด เช่น *Navicula* spp. และ *Nitzschia* spp. มีส่วนสำคัญอย่างมากต่อการสร้างและหลั่งสารอินทรีย์ละลายน้ำ (Dissolved organic matter; DOM) (Ogawa and Tanoue, 2003; Underwood *et al.*, 2004; Mühlenbruch *et al.*, 2018) การเพิ่มขึ้นของปริมาณ DOM ในระบบนิเวศทางน้ำเป็นหนึ่งปัจจัยที่เพิ่มความหนืดของน้ำอย่างมาก (Jenkinson and Biddanda, 1995; Kuhnhenn *et al.*, 2006; Seuront *et al.*, 2006; Guadayol *et al.*, 2021) อัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง รวมถึงอัตราการตายของ *Navicula* sp. และ *Nitzschia* sp. ที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของความหนืดในสภาวะแวดล้อมซึ่งเกิดจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณ DOM ที่สร้างด้วยตัวสาหร่ายเองและมีเมือกจากทากทะเลที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเป็นปัจจัยร่วมโดยที่เมือกที่มีความเข้มข้นสูงอาจยับยั้งการเจริญเติบโตและอาจเพิ่มอัตราการตายของไดอะตอมทั้งสองชนิด อย่างไรก็ตามความหนืดของสิ่งแวดล้อมจะมีผลต่อ *Thalassiosira* sp. ค่อนข้างน้อย (Kuhnhenn *et al.*, 2006) การเพิ่มขึ้นของความหนืดของน้ำที่เป็นผลมาจากเมือกจากทากทะเลจึงไม่ส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตหรืออัตราการตายของสาหร่ายชนิดนี้ ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับกลศาสตร์ของไหล (fluid dynamics) และการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้ยังจำเป็นต้องศึกษาต่อไป

ผลของเมือกทากทะเล *Onchidium* ที่ผ่านการบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลงส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Navicula* sp. และ *Nitzschia* sp. อย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าการเพาะ

สาหร่ายขนาดเล็กด้วยเมือกจากทากทะเลที่หลั่งใหม่ในปริมาณที่เหมาะสมและน้ำทะเล (ชุดควบคุม) จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้งสองชนิดและจำนวนเซลล์สูงสุดของ *Nitzschia* ตลอดการทดลองมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนเซลล์ตั้งต้น แต่เมื่อนำเมือกไปบ่มในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลงกลับส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตต่อสาหร่ายทั้งสองชนิดอย่างมาก โดยเฉพาะเมื่อบ่มเมือกนานกว่า 48 ชั่วโมง เมื่อนำไปเพาะสาหร่ายพบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะ *Nitzschia* ที่จำนวนเซลล์สูงสุดมีจำนวนมากกว่าจำนวนเซลล์ตั้งต้นอย่างมาก โดยปรกติแล้วเมือกที่สดใหม่มีหน้าที่สำคัญต่อการหาอาหารของมอลลัสก์ โดยเมือกที่ใช้ในการหาอาหารจะมีประสิทธิภาพสูงสุดในการดักจับสาหร่ายจากมวลน้ำและหน้าดินเมื่อมีอายุน้อยกว่า 1 วัน (Edwards and Davies, 2002; Holmes, 2005; Skiold-Hanlin, 2015) ก่อนจะถูกย่อยสลายด้วยกระบวนการทางกายภาพและชีวภาพอย่างรวดเร็ว ในช่วงที่น้ำขึ้นท่วมซึ่งอาจจะต่ำกว่า 6-8 ชั่วโมง (Herndl and Peduzzi, 1989; Davies and Beckwith, 1999) ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพในการเป็นเครื่องมือในการดักจับอาหารจะลดลงตามเวลา แต่จากการศึกษานี้พบว่าเมือกที่ถูกหลั่งทิ้งไว้เป็นระยะเวลาหนึ่งมีประสิทธิภาพในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กหน้าดินได้อย่างดี ซึ่งคาดว่าเป็นผลมาจากการที่เมือกที่ถูกหลั่งทิ้งไว้ถูกย่อยสลายและมีการหมุนเวียน (recycle) กลับเป็นสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Allers *et al*., 2008; Brown and Bythell, 2005; Krediet *et al*., 2009; Wild *et al*., 2008) จากการศึกษาของ Vacelet และ Thomassin (1991) พบว่าเมือกที่หลั่งจากปะการังถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียในระยะเวลาอันสั้น นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังพบการรวมกลุ่มและสะพรั่งของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กหลายชนิดในช่วงแรกของการย่อยสลายเมือกที่ถูกหลั่งไว้ สารอาหารที่จำเป็นถูกใช้ในกระบวนการย่อยสลายของแบคทีเรีย ส่งผลให้มีสารอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของไดอะตอมและนำไปสู่การลดลงของอัตราการเจริญเติบโตดังที่เป็นผลในชุดการทดลอง T1 สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของไดอะตอมในเมือกจากทากทะเลอาจจำเป็นต้องได้รับการย่อยสลายและเปลี่ยนรูปโดยแบคทีเรียก่อนนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม ดังเช่นเมื่อบ่มเมือกนานกว่า 48 ชั่วโมง สารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมีปริมาณมากเพียงพอและมากกว่าชุดควบคุม ส่งผลให้ไดอะตอมทั้งสองชนิดมีอัตราการเจริญเติบโตที่มากอย่างมีนัยสำคัญรวมถึงการมีจำนวนเซลล์สูงสุดมากกว่าจำนวนเซลล์ตั้งต้น อย่างไรก็ตามการบ่มเมือกในชุดจำลองน้ำขึ้นน้ำลงในระยะเวลาที่แตกต่างกันไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของ *Thalassiosira* sp. คาดว่าเนื่องมาจากการที่ไดอะตอมชนิดนี้มีความยืดหยุ่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *Thalassiosira* spp. มีความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมที่มีสารจำเป็นบางชนิดที่ต่ำ เช่น ไนโตรเจน สังกะสีและเหล็ก เนื่องจากมีเอนไซน์และกระบวนการใช้สารอาหารหลากหลายรูปแบบ (Ellwood and Hunter, 2000; Armbrust *et al.*, 2004; Chappell *et al.*, 2015) กล่าวคือทั้งความเข้มข้นของเมือกทากในน้ำทะเลและระยะเวลาการบ่มเมือกทากล้วนไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของไดอะตอมชนิดนี้

จากผลการทดลองจึงเสนอได้ว่าทากทะเล *Onchidium* มีส่วนสำคัญต่อระบบนิเวศชายฝั่งอย่างมาก โดยกิจกรรมการดำรงชีวิตและเมือกจากทากทะเล *Onchidium* มีผลต่อโครงสร้างชุมชนสิ่งมีชีวิต ทากทะเล *Onchidium* ทำหน้าที่สร้างพื้นที่ว่างต่อการลงเกาะผ่านการขูดกินชีวมวลหน้าดินและหลั่งเมือกออกมา เมือกจากทากทะเลดังกล่าวในปริมาณและระยะเวลาที่เหมาะสมมีส่วนส่งเสริม (facilitate) ให้สาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดลงเกาะและใช้เมือกเป็นสารอาหารตั้งต้นในการเจริญเติบโต จึงจัดได้ว่าทากทะเล *Onchidium* ทำหน้าที่เป็น allogenic ecosystem engineer ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่ปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นด้วยกิจกรรมการดำรงชีวิตของตนเอง ทั้งนี้ allogenic ecosystem engineer มีส่วนสำคัญอย่างมากต่อความซับซ้อนของที่อยู่อาศัยและอินทรียสารที่เกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต การดูดซึมสารอาหาร รวมไปถึงการปรับพื้นที่ให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิต ตลอดจนรูปแบบโครงสร้างของสายใยอาหารในระบบนิเวศ (Bruno, 2000; Donadi *et al.*, 2013; van der Zee *et al.*, 2016; Eriksson *et al.*, 2017; Borst *et al.*, 2018) นอกจากนี้อาจพิจารณาได้ว่าทากทะเล *Onchidium* มีความความสัมพันธ์กับชุมชนเบนทิคไดอะตอมในรูปแบบ positive feedback mechanism กล่าวคือ กิจกรรมที่เกิดจากการดำรงชีวิตของทากทะเลทำให้เกิดพื้นที่ว่างและหลั่งสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเบนทิคไดอะตอม ช่วยเพิ่มชีวมวลของเบนทิคไดอะตอมซึ่งเป็นอาหารหลักโดยตรงกับทากทะเล ส่งผลให้ทากทะเลสามารถหาอาหารได้มากขึ้น อาจพิจารณาได้ว่าทากทะเลมีส่วนสำคัญในการการปรับพื้นที่ให้เหมะสมต่อการทำ “การเพาะเบนทิคไดอะตอม” ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและขยายพันธุ์ของทากทะเลเอง การปรับพื้นที่ให้เหมาะสมต่อการทำฟาร์มของแหล่งอาหารสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตในทะเลหลายชนิด เช่น หอยแครง *Cerastoderma edule* มีส่วนสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่เป็นอาหารหลักโดยการเพิ่มเสถียรภาพของหน้าดิน (sediment stability) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญอย่างยิ่งในการรวมกลุ่มและลงเกาะเพื่อเจริญเติบโตของ

สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก (Donadi *et al.*, 2013; Eriksson *et al.*, 2017) การรวมกลุ่มของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กจำนวนมากส่งผลให้เกิดชั้นดินที่มีเสถียรภาพมากขึ้น โดยการสร้างและหลั่ง DOM ปริมาณมากที่มีความสามารถในการสะสมและยึดเกาะอนุภาคของพื้นผิวเข้าด้วยกัน (Blanchard *et al.*, 2000; Weerman *et al.*, 2010) เป็นผลทำให้เกิด positive feedback loop ระหว่างเสถียรภาพของชั้นดินและการรวมกลุ่มและการเจริญเติบโตของสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็ก รูปแบบความสัมพันธ์ระหว่าง ecosystem engineer กับผู้ผลิตปฐมภูมิในลักษณะ positive feedback loop มีอิทธิพลและความสำคัญต่อการถ่ายทอดพลังงานและการหมุนเวียนสารอาหารในระบบนิเวศชายฝั่งอย่างมาก นอกจากนี้ผลของเมือกทากที่มีอายุแตกต่างกันต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายหน้าดินแต่ละชนิดอาจมีส่วนสำคัญในต่อรูปแบบลำดับโครงสร้างประชาคมสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กในระบบนิเวศชายฝั่ง โดยสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กที่มีอัตราการเจริญเติบโตตอบสนองต่อเมือกทากที่มีอายุน้อยได้ดีจะมีความสามารถในการขยายพันธุ์และเพิ่มชีวมวลในพื้นที่ระบบนิเวศชายฝั่งได้ก่อน จากนั้นสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กที่เจริญเติบโตได้ดีในเมือกทากที่มีอายุมากขึ้นจะมีความสามารถเพิ่มชีวมวลมากขึ้นในเวลาต่อมา ส่งผลให้เกิดเป็นลำดับชนิดพันธุ์เด่นในพื้นที่ระบบนิเวศต่างช่วงเวลากัน อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้คำนึงถึงความสัมพันธ์ในเชิงความสามารถในการแข่งขัน (competition) ระหว่างสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กแต่ละชนิดและการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาภายใต้เงื่อนไขในห้องปฏิบัติการเพียงเท่านั้น การศึกษาในภาคสนามจำนวนมากยังเป็นสิ่งที่จำเป็นในการยืนยันข้อเสนอเกี่ยวกับผลกระทบและความสัมพันธ์ระหว่างเมือกจากทากทะเล *Onchidium* กับผู้ผลิตปฐมภูมิรวมถึงบทบาทหน้าที่ความสัมพันธ์ในพลวัตของชุมชนระบบนิเวศชายฝั่ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า ทากทะเลใช้เมือกในหลายกิจกรรมการดำรงชีวิต แต่นอกจากมีประโยชน์กับตัวทากเองแล้ว เมือกจากทากทะเลยังมีส่วนสำคัญและเป็นประโยชน์ต่อชุมชนสิ่งมีชีวิตโดยรอบด้วย โดยเมือกเข้มข้นที่ทากทะเลหลั่งออกมาปกคลุมตัวเพื่อใช้ในการป้องกันตนเอง มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของไดอะตอมบนผิวลำตัวและบนพื้นที่ที่ทากทะเลเคลื่อนที่ขูดกินผ่าน เมือกที่ถูกหลั่งออกมาเมื่อถูกย่อยสลายตามธรรมชาติ คาดว่าเมือกจะถูกเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปแบบสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก จากการศึกษานี้จึงเสนอได้ว่าทากทะเล *Onchidium* ทำหน้าที่เป็น intertidal ecosystem engineer โดยทำหน้าที่ปรับพื้นที่และเอื้ออำนวยสารอาหารที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตอื่น การเสนอชี้ชัดถึงบทบาทหน้าที่ของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศชายฝั่ง ช่วยทำให้เข้าใจถึงความสำคัญและ

ผลกระทบต่อโครงสร้างชุมชนประชากรสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศชายฝั่งจากทากทะเลชนิดนี้ ซึ่งส่งผลให้สามารถจัดลำดับความสำคัญในการเป็นเป้าสำหรับอนุรักษ์และฟื้นฟูระบบนิเวศชายฝั่งได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม

Allers, E., Niesner, C., Wild, C., and Pernthaler, J. (2008). Microbes enriched in seawater after addition of coral mucus. *Applied and environmental microbiology, 74*(10), 3274-3278.

Amini, Y. F., Kiabi, B., Shokri, M., and Ashja, A. A. (2012). Abundance and species richness of intertidal gastropods in Qeshm Island, the Persian Gulf, before and after cyclone GONU (2007-2008).

Andersen, R. A. (2005). *Algal culturing techniques*. Burlington, Mass.: Elsevier/Academic Press.

Armbrust, E. V., Berges, J. A., Bowler, C., Green, B. R., Martinez, D., Putnam, N. H., . . . Bechner, M. (2004). The genome of the diatom Thalassiosira pseudonana: ecology, evolution, and metabolism. *Science, 306*(5693), 79-86.

Arumugam, M., Shanmugam, A., Balasubramanian, T., Kannan, L., and Ajmalkhan, S. (2010). Studies on molluscan diversity of Great Nicobar island-a pre tsunami scenario. *Recent Trends in Biodiversity of Andaman and Nicobar Islands (Eds: Ramakrishna, RC Raghunathan and C. Sivaperuman). Zoological Survey of India, Kolkata*, 275-282.

Baier, R. E. (2014). Correlations of materials surface properties with biological responses. *Journal of Surface Engineered Materials and Advanced Technology, 5*(01), 42.

Barbosa, M. J., Janssen, M., Ham, N., Tramper, J., and Wijffels, R. H. (2003). Microalgae cultivation in air-lift reactors: Modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency. *Biotechnology and Bioengineering, 82*(2), 170-179. doi:https://doi.org/10.1002/bit.10563

Blanchard, G., Paterson, D., Stal, L., Richard, P., Galois, R., Huet, V., . . . Dyer, K. (2000). The effect of geomorphological structures on potential biostabilisation by microphytobenthos on intertidal mudflats. *Continental Shelf Research, 20*(10-11), 1243-1256.

Borst, A. C., Verberk, W. C., Angelini, C., Schotanus, J., Wolters, J.-W., Christianen, M. J., . . . van der Heide, T. (2018). Foundation species enhance food web complexity

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

through non-trophic facilitation. *PloS one, 13*(8), e0199152.

Bracken, M. E. (2004). INVERTEBRATE‐MEDIATED NUTRIENT LOADING INCREASES GROWTH OF AN INTERTIDAL MACROALGA 1. *Journal of Phycology, 40*(6), 1032-1041.

Branch, G. M., and GM, B. (1981). The biology of limpets: physical factors, energy flow, and ecological interactions.

Bronstein, J. L. (2009). The evolution of facilitation and mutualism. *Journal of Ecology, 97*(6), 1160-1170.

Brown, B., and Bythell, J. (2005). Perspectives on mucus secretion in reef corals. *Marine Ecology Progress Series, 296*, 291-309.

Bruno, J. F. (2000). Facilitation of cobble beach plant communities through habitat modification by Spartina alterniflora. *Ecology, 81*(5), 1179-1192.

Calow, P. (1974). Some observations on locomotory strategies and their metabolic effects in two species of freshwater gastropods, Ancylus fluviatilis Müll. and Planorbis contortus Linn. *Oecologia, 16*(2), 149-161.

Chappell, P. D., Whitney, L. P., Wallace, J. R., Darer, A. I., Jean-Charles, S., and Jenkins, B. D. (2015). Genetic indicators of iron limitation in wild populations of Thalassiosira oceanica from the northeast Pacific Ocean. *The ISME journal, 9*(3), 592-602.

Chew, S., Ho, S., and Ip, Y. (1999). Free amino acids and osmoregulation in the intertidal pulmonate Onchidium tumidium. *Marine Biology, 134*(4), 735-741.

Cilia, G., and Fratini, F. (2018). Antimicrobial properties of terrestrial snail and slug mucus. *Journal of Complementary and Integrative Medicine, 15*(3). doi:doi:10.1515/jcim-2017-0168

Coddeville, B., Maes, E., Ferrier-Pages, C., and Guerardel, Y. (2011). Glycan profiling of gel forming mucus layer from the scleractinian symbiotic coral Oculina arbuscula. *Biomacromolecules, 12*(6), 2064-2073.

Cognie, B., and Barille, L. (1999). Does bivalve mucus favour the growth of their main food source, microalgae? *Oceanologica Acta, 22*(4), 441-450.

Connor, V. M. (1986). The use of mucous trails by intertidal limpets to enhance food

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

resources. *The Biological Bulletin, 171*(3), 548-564.

Connor, V. M., and Quinn, J. F. (1984). Stimulation of food species growth by limpet mucus. *Science, 225*(4664), 843-844.

Cumming, R. (2013). *Evolutionary biogeography and patterns of dispersal in the intertidal slug Onchidella (Systellomatophora: Mollusca).* University of Otago,

Davies, M. S., and Beckwith, P. (1999). Role of mucus trails and trail-following in the behaviour and nutrition of the periwinkle Littorina littorea. *Marine Ecology Progress Series, 179*, 247-257.

Davies, M. S., and Hawkins, S. J. (1998). Mucus from marine molluscs. In *Advances in marine biology* (Vol. 34, pp. 1-71): Elsevier.

Davies, M. S., Hawkins, S. J., and Jones, H. D. (1990a). Mucus production and physiological energetics in Patella vulgata L. *Journal of Molluscan Studies, 56*(4), 499-503.

Davies, M. S., Hawkins, S. J., and Jones, H. D. (1992a). Pedal mucus and its influence on the microbial food supply of two intertidal gastropods, Patella vulgata L. and Littorina littorea (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 161*(1), 57-77.

Davies, M. S., Jones, H. D., and Hawkins, S. J. (1990b). Seasonal variation in the composition of pedal mucus from Patella vulgata L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 144*(2-3), 101-112.

Davies, M. S., Jones, H. D., and Hawkins, S. J. (1992b). Physical factors affecting the fate of pedal mucus produced by the common limpet Patella vulgata. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 72*(3), 633-643.

Dayrat, B. (2009). Review of the current knowledge of the systematics of Onchidiidae (Mollusca: Gastropoda: Pulmonata) with a checklist of nominal species. *Zootaxa, 2068*(1), 1–26-21–26.

Dayrat, B., Goulding, T. C., Apte, D., Bhave, V., and Ngô Xuân, Q. (2017). A new genus and four new species of onchidiid slugs from South-East Asia (Mollusca: Gastropoda: Pulmonata: Onchidiidae). *Journal of Natural History, 51*(31-32), 1851-1897.

DeMoor, S., Waite, H. J., Jangoux, M. J., and Flammang, P. J. (2003). Characterization of

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

the adhesive from cuvierian tubules of the sea cucumber Holothuria forskali (Echinodermata, Holothuroidea). *Marine biotechnology, 5*(1), 45-57.

Denny, M. W. (1989). *Invertebrate mucous secretions: functional alternatives to vertebrate paradigms.* Paper presented at the Symposia of the Society for Experimental Biology.

Donadi, S., Westra, J., Weerman, E. J., van der Heide, T., van der Zee, E. M., van de Koppel, J., . . . Eriksson, B. K. (2013). Non-trophic interactions control benthic producers on intertidal flats. *Ecosystems, 16*(7), 1325-1335.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. t., and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry, 28*(3), 350-356.

Edwards, M., and Davies, M. S. (2002). Functional and ecological aspects of the mucus trails of the intertidal prosobranch gastropod Littorina littorea. *Marine Ecology Progress Series, 239*, 129-137.

Ellwood, M. J., and Hunter, K. A. (2000). The incorporation of zinc and iron into the frustule of the marine diatom Thalassiosira pseudonana. *Limnology and oceanography, 45*(7), 1517-1524.

Eriksson, B. K., Westra, J., van Gerwen, I., Weerman, E., van der Zee, E., van der Heide, T., . . . Donadi, S. (2017). Facilitation by ecosystem engineers enhances nutrient effects in an intertidal system. *Ecosphere, 8*(12), e02051.

Farrell, T. M. (1991). Models and Mechanisms of Succession: An Example From a Rocky Intertidal Community. *Ecological Monographs, 61*(1), 95-113. doi:https://doi.org/10.2307/1943001

Gotow, T. (1975). Morphology and function of the photoexcitable neurones in the central ganglia of Onchidium verruculatum. *Journal of comparative physiology, 99*(2), 139-152.

Grossman, A. (2016). Nutrient acquisition: the generation of bioactive vitamin B12 by microalgae. *Current Biology, 26*(8), R319-R321.

Guadayol, Ò., Mendonca, T., Segura-Noguera, M., Wright, A. J., Tassieri, M., and Humphries, S. (2021). Microrheology reveals microscale viscosity gradients in planktonic systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 118*(1).

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Guillard, R. R. (1973). Division rates. *Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements*.

Hannides, A. K., and Aller, R. C. (2016). Priming effect of benthic gastropod mucus on sedimentary organic matter remineralization. *Limnology and oceanography, 61*(5), 1640-1650.

Herndl, G. J., and Peduzzi, P. (1989). Potential microbial utilization rates of sublittoral gastropod mucus trails. *Limnology and oceanography, 34*(4), 780-784.

Holmes, S. P. (2005). THE EFFECT OF PATELLA VULGATA PEDAL MUCUS ON THE SETTLEMENT AND DEVELOPMENT OR PROPAGATION OF SKELETONEMA COSTATUM AND FUCUS SPIRALIS. *Journal of Molluscan Studies, 71*(1), 53-57. doi:10.1093/mollus/eyi007

Jenkinson, I. R., and Biddanda, B. A. (1995). Bulk-phase viscoelastic properties of seawater relationship with plankton components. *Journal of Plankton Research, 17*(12), 2251-2274.

John, A. B., Diana, E. V., and Paul, J. H. (2002). Effects of temperature on growth rate, cell composition and nitrogen metabolism in the marine diatom Thalassiosira pseudonana (Bacillariophyceae). *Marine Ecology Progress Series, 225*, 139-146. Retrieved from https://www.int-res.com/abstracts/meps/v225/p139-146/

Jones, C. G., Lawton, J. H., and Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. In *Ecosystem management* (pp. 130-147): Springer.

Katagiri, N., Katagiri, Y., Wada, M., Okano, D., Shigematsu, Y., and Yoshioka, T. (2014). Three-dimensional reconstruction of the axon extending from the dermal photoreceptor cell in the extraocular photoreception system of a marine gastropod, Onchidium. *Zoological science, 31*(12), 810-819.

Kim, H. H., Ko, Y. W., Yang, K. M., Sung, G., and Kim, J. H. (2017). Effects of disturbance timing on community recovery in an intertidal habitat of a Korean rocky shore. *Algae, 32*(4), 325-336.

Kuhnhenn, V., Krägel, J., Horstmann, U., and Miller, R. (2006). Surface shear rheological studies of marine phytoplankton cultures—Nitzschia closterium, Thalassiosira rotula, Thalassiosira punctigera and Phaeocystis sp. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 47*(1), 29-35.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Li, L., Cui, J., Liu, Q., Ding, Y., and Liu, J. (2015). Screening and phylogenetic analysis of lipid-rich microalgae. *Algal Research, 11*, 381-386.

Malakar, B., Venu, S., Ram, B. S., and Prabhakaran, M. A study on the biodiversity of snake island in South Andaman.

Martín-Rodríguez, A. J., Babarro, J. M., Lahoz, F., Sansón, M., Martín, V. S., Norte, M., and Fernández, J. J. (2015). From broad-spectrum biocides to quorum sensing disruptors and mussel repellents: Antifouling profile of alkyl triphenylphosphonium salts. *PloS one, 10*(4), e0123652.

Martin-Jézéquel, V., Hildebrand, M., and Brzezinski, M. A. (2000). Silicon metabolism in diatoms: implications for growth. *Journal of Phycology, 36*(5), 821-840.

Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.-I., and Lee, Y. C. (2005). Carbohydrate analysis by a phenol–sulfuric acid method in microplate format. *Analytical biochemistry, 339*(1), 69-72.

Meikle, P., Richards, G., and Yellowlees, D. (1988). Structural investigations on the mucus from six species of coral. *Marine Biology, 99*(2), 187-193.

Montagnes, D., and Franklin, D. (2001). Effect of Temperature on Diatom Volume, Growth Rate, and Carbon and Nitrogen Content: Reconsidering Some Paradigms Author(s). *Limnology and oceanography, 46*, 2008-2018. doi:10.4319/lo.2001.46.8.2008

Mühlenbruch, M., Grossart, H. P., Eigemann, F., and Voss, M. (2018). Mini-review: Phytoplankton-derived polysaccharides in the marine environment and their interactions with heterotrophic bacteria. *Environmental microbiology, 20*(8), 2671-2685.

Nishi, T., Shimotsu, K., and Gotow, T. (2007). *Physiology of Simple Photoreceptors in the Abdominal Ganglion of Onchidium*, Berlin, Heidelberg.

Ogata, T., Ishimaru, T., and Kodama, M. (1987). Effect of water temperature and light intensity on growth rate and toxicity change in Protogonyaulax tamarensis. *Marine Biology, 95*(2), 217-220.

Ogawa, H., and Tanoue, E. (2003). Dissolved organic matter in oceanic waters. *Journal of Oceanography, 59*(2), 129-147.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Orefice, I., Musella, M., Smerilli, A., Sansone, C., Chandrasekaran, R., Corato, F., and Brunet, C. (2019). Role of nutrient concentrations and water movement on diatom's productivity in culture. *Scientific Reports, 9*(1), 1479. doi:10.1038/s41598-018-37611-6

Pawlicki, J., Pease, L., Pierce, C., Startz, T., Zhang, Y., and Smith, A. (2004). The effect of molluscan glue proteins on gel mechanics. *Journal of experimental biology, 207*(7), 1127-1135.

Petkov, G. D., and Bratkova, S. G. (1996). Viscosity of algal cultures and estimation of turbulency in devices for the mass culture of micro algae. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 99-104.

Pitt, S. J., Graham, M. A., Dedi, C. G., Taylor-Harris, P. M., and Gunn, A. (2015). Antimicrobial properties of mucus from the brown garden snail Helix aspersa. *British Journal of Biomedical Science, 72*(4), 174-181. doi:10.1080/09674845.2015.11665749

Railkin, A. I. (2003). *Marine biofouling: colonization processes and defenses*: CRC press.

Seuront, L., Vincent, D., and Mitchell, J. G. (2006). Biologically induced modification of seawater viscosity in the Eastern English Channel during a Phaeocystis globosa spring bloom. *Journal of Marine Systems, 61*(3-4), 118-133.

Skiold-Hanlin, S. (2015). *Functional and Ecological Aspects of the Mucus Trails of the Freshwater Gastropod Elimia potosiensis.* Southern Illinois University at Edwardsville,

Smith, A. M., and Morin, M. C. (2002). Biochemical differences between trail mucus and adhesive mucus from marsh periwinkle snails. *The Biological Bulletin, 203*(3), 338-346.

Smith, A. M., Quick, T. J., and St. Peter, R. L. (1999). Differences in the composition of adhesive and non-adhesive mucus from the limpet Lottia limatula. *The Biological Bulletin, 196*(1), 34-44.

Stabili, L., Licciano, M., Giangrande, A., Gerardi, C., De Pascali, S. A., and Fanizzi, F. P. (2019). First insight on the mucus of the annelid Myxicola infundibulum (Polychaeta, Sabellidae) as a potential prospect for drug discovery. *Marine drugs, 17*(7), 396.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Stabili, L., Schirosi, R., Di Benedetto, A., Merendino, A., Villanova, L., and Giangrande, A. (2011). First insights into the biochemistry of Sabella spallanzanii (Annelida: Polychaeta) mucus: a potentially unexplored resource for applicative purposes. *Marine Biological Association of the United Kingdom. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 91*(1), 199.

Stabili, L., Schirosi, R., Licciano, M., and Giangrande, A. (2009). The mucus of Sabella spallanzanii (Annelida, Polychaeta): Its involvement in chemical defence and fertilization success. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 374*(2), 144-149.

Sterner, R. W. (1989). The role of grazers in phytoplankton succession. In *Plankton ecology* (pp. 107-170): Springer.

Suh, I. S., and Lee, C.-G. (2003). Photobioreactor engineering: design and performance. *Biotechnology and bioprocess engineering, 8*(6), 313.

Suzuki, Y., and Takahashi, M. (1995). GROWTH RESPONSES OF SEVERAL DIATOM SPECIES ISOLATED FROM VARIOUS ENVIRONMENTS TO TEMPERATURE. *Journal of Phycology, 31*(6), 880-888. doi:https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1995.00880.x

Suzuki, Y., Tasumi, S., Tsutsui, S., Okamoto, M., and Suetake, H. (2003). Molecular diversity of skin mucus lectins in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 136*(4), 723-730.

Taraldsvik, M., and Myklestad, S. M. (2000). The effect of pH on growth rate, biochemical composition and extracellular carbohydrate production of the marine diatom Skeletonema costatum. *European Journal of Phycology, 35*(2), 189-194. doi:10.1080/09670260010001735781

Ulagesan, S., and Kim, H. J. (2018). Antibacterial and Antifungal Activities of Proteins Extracted from Seven Different Snails. *Applied Sciences, 8*(8), 1362. Retrieved from https://www.mdpi.com/2076-3417/8/8/1362

Ullah, Z., Zehra, I., and Gondal, M. A. (2015). Species diversity, distribution and seasonal abundance in mangrove associated molluscs along the Karachi Coast, Pakistan. *Journal of Bioresource Management, 2*(3), 2.

Underwood, G. J., Boulcott, M., Raines, C. A., and Waldron, K. (2004). ENVIRONMENTAL EFFECTS ON EXOPOLYMER PRODUCTION BY MARINE BENTHIC DIATOMS:

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

DYNAMICS, CHANGES IN COMPOSITION, AND PATHWAYS OF PRODUCTION 1. *Journal of Phycology, 40*(2), 293-304.

Vacelet, E., and Thomassin, B. A. (1991). Microbial utilization of coral mucus in long term in situ incubation over a coral reef. *Hydrobiologia, 211*(1), 19-32.

van der Zee, E. M., Angelini, C., Govers, L. L., Christianen, M. J., Altieri, A. H., van der Reijden, K. J., . . . van Gils, J. A. (2016). How habitat-modifying organisms structure the food web of two coastal ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 283*(1826), 20152326.

Wainwright, S. A., Biggs, W., and Currey, J. D. (1982). *Mechanical design in organisms*: Princeton University Press.

Wang, B., Chen, D., Yu, M., Liu, Y., Liu, P., and Zhang, X. (2021). A Review on Metabolites from Onchidium Genus: Chemistry and Bioactivity. *Chemistry & Biodiversity, 18*(2), e2000580. doi:https://doi.org/10.1002/cbdv.202000580

Weerman, E. J., Van de Koppel, J., Eppinga, M. B., Montserrat, F., Liu, Q.-X., and Herman, P. M. (2010). Spatial self-organization on intertidal mudflats through biophysical stress divergence. *The American Naturalist, 176*(1), E15-E32.

Zvonareva, S., and Kantor, Y. (2016). Che**C**klist of gastropod molluscs in mangroves of Khanh Hoa province, Vietnam. *Zootaxa, 4162*(3), 401-437.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	KANNAPOJ TECHAWONGSTIEN
วัน เดือน ปี เกิด	09 December 1994
สถานที่เกิด	Khonkaen, Thailand
วุฒิการศึกษา	Bachelor degree of science
ที่อยู่ปัจจุบัน	159 sk mansion Room404 Petchaburi rd. Thoogphayathai sub-district, Ratchathewi district, Bangkok 10400
ผลงานตีพิมพ์	-
รางวัลที่ได้รับ	-

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY