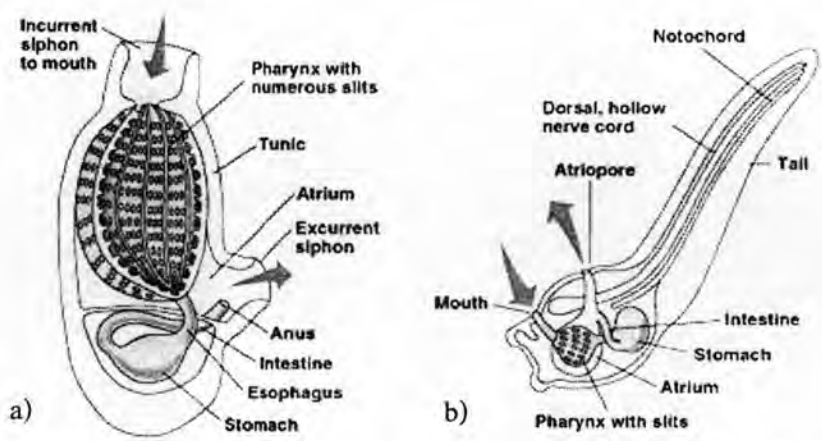
หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

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

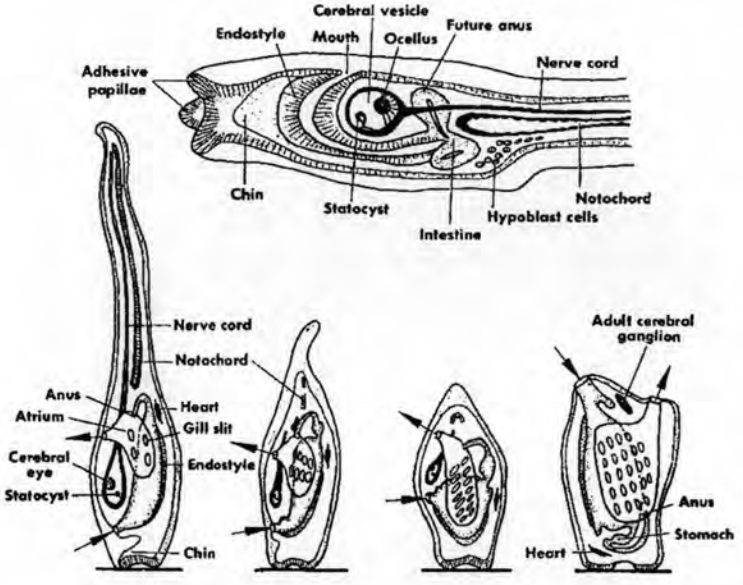


ที่มา: Campbell *et al.* (1999)

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

เพรียงหัวหอมเป็นกระเทย และมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยและไม่อาศัยเพศ (Cloney, 1990) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเป็นการแตกหน่อ (budding) พบเฉพาะเพรียงหัวหอมที่อาศัยร่วมกันเป็นโคโลนี โดยแต่ละหน่อในโคโลนีเรียกว่า blastozooid ซึ่งเกิดจาก oozooid หรือ zooid ที่พัฒนาจากไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ สำหรับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีทั้งการปฏิสนธิภายในตัวเอง (self fertilization) และปฏิสนธิแบบข้ามตัว (cross fertilization) ทั้งนี้ เพรียงหัวหอมส่วนใหญ่มีการปฏิสนธิแบบข้ามตัว

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



ที่มา: Hickman (1973)

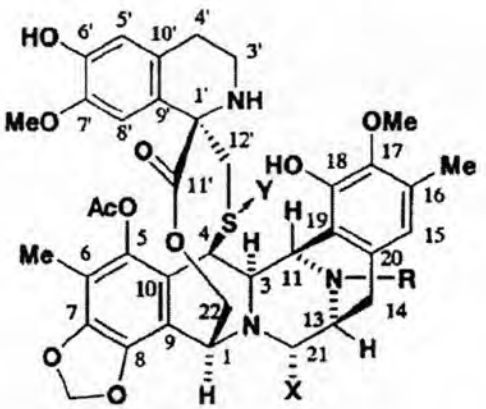
รูปที่ 2-2. กระบวนการ metamorphosis ของเพรียงหัวหอม

2.1 การใช้ประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทะเล

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

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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



ecteinascidins
743 (1a): R = Me, X = OH, Y = none
729 (2): R = H, X = OH, Y = none
759B (3a): R = Me, X = OH, Y = O
770 (1b): R = Me, X = CN, Y = none

ที่มา: Suwanborirux *et al.* (2002)

รูปที่ 2-3. โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Ecteinascidins

2.2 ข้อจำกัดในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทะเล

การนำสิ่งมีชีวิตจากทะเลมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มีข้อจำกัดเนื่องจากปริมาณสารที่สกัดได้เพื่อนำไปใช้มีน้อย จึงจำเป็นต้องใช้มวลชีวภาพของทรัพยากรธรรมชาติเป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของทรัพยากร รวมถึง ถิ่นอาศัยและระบบนิเวศนั้นๆ ได้

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

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

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

2.3 ถิ่นที่อยู่ และผลของปัจจัยทางกายภาพ

เพรียงหัวหอม *E. turbinata* พบได้ทั่วไปบริเวณทะเลแคริบเบียนและอ่าวเม็กซิโก ซูออยด์มีความยาวประมาณ 12–18 มิลลิเมตร และมีสีส้มซึ่งเป็นลักษณะเด่น ซูออยด์เหล่านี้มีจำนวนมากนับร้อยตัวต่อโคโลนีและเชื่อมต่อกันด้วย stolon ที่เปรียบเสมือนรากยึดโคโลนีให้ติดกับพื้นผิว

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

2.3.1 แสง

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

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

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

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

การศึกษาอิทธิพลของแสงที่มีผลต่อการลงเกาะบนพื้นผิว และระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) ของเพรียงหัวหอม ซึ่งส่งผลตามมาต่อการกระจายตามธรรมชาติ พบว่า เพรียงหัวหอม *Ascidia mentula* มีพฤติกรรมเลือกลงเกาะบนพื้นผิวที่มืดโดยสามารถตอบสนองต่อแสงที่ความเข้มแสงต่ำ (6×10^{14} Quanta/s/m^2 หรือประมาณ 0.1 Lux) และสามารถพบการกระจายของตัวเต็มวัยได้ในบริเวณพื้นที่เดียวกันที่มีความเข้มแสงต่ำ (Svane and Dolmer, 1995) สอดคล้องกับพฤติกรรมการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่ตอบสนองการลงเกาะบนพื้นผิวในส่วนที่มืดมากกว่าส่วนที่สว่างถึง 3 เท่า (76% ของทั้งหมด) อย่างไรก็ตาม เมื่อนำตัวอ่อนมากระตุ้นให้ลงเกาะด้วยการปล่อยลงในน้ำจืดเป็นเวลาประมาณ 60 วินาที พบว่า ตัวอ่อนเลือกลงเกาะโดยอิสระบนพื้นผิวที่แบ่งออกเป็นสองส่วนที่เท่ากัน (มืดและสว่าง) ไม่แตกต่างกัน ซึ่งอาจมีผลมาจาก การที่น้ำจืดทำให้ประสิทธิภาพของอวัยวะที่ตอบสนองต่อแสงของเพรียงหัวหอมลดน้อยลง นอกจากนั้น การกระตุ้นตัวอ่อนด้วยน้ำจืดยังทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการลงเกาะบนพื้นผิวของเพรียงหัวหอมเร็วขึ้น (ปิยะ โกยสิน, 2548)

2.3.2 อุณหภูมิ และความเค็ม

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

2.4 การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมเพื่อผลผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

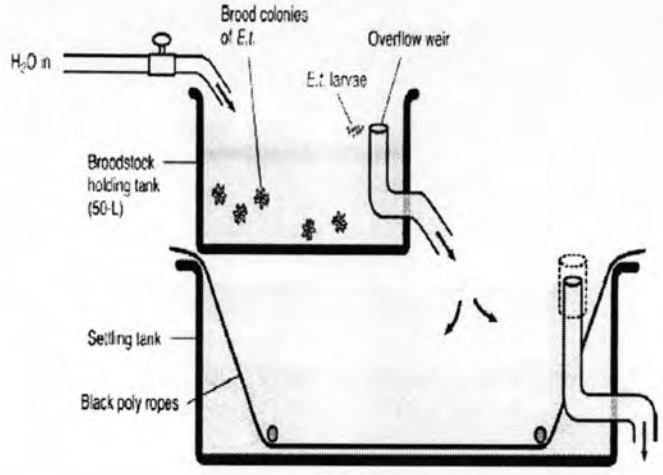
การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมหรือสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังอื่นเชิงอุตสาหกรรม โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มีรายงานไม่มากนัก เช่น การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอม ไบรโอซัว หรือฟองน้ำ เป็นต้น (Mendola, 2003; Page *et al.*, 2005) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่ได้นำผลที่ได้จากการวิจัยพื้นฐานด้านต่างๆ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

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงฟองน้ำที่มีลักษณะแตกต่างตามโครงสร้างสัณฐานวิทยา 3 ชนิด ได้แก่ *Psammocinia hawere*, *Raspailia agminata* และ *R. topsenti* พบว่า มีศักยภาพสูงในการเพาะเลี้ยงเชิงอุตสาหกรรมเพื่อนำไปผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งเป็นการป้องกันและลดปัญหาการใช้ประโยชน์จากประชากรฟองน้ำตามธรรมชาติด้วยเช่นกัน (Duckworth *et al.*, 1997) ฟองน้ำ *P. hawere* ซึ่งมีลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นก้อนและรูปทรงคล้ายถ้วย (massive cup shape fibrous sponge) มีอัตราการเติบโตที่ดีและอัตรารอดสูงเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในที่ลึกในฤดูหนาว ซึ่งเป็นผลจากการที่ความเข้มแสงอุลตร้าไวโอเลตและอุณหภูมิของน้ำต่ำ ช่วยให้ฟองน้ำสามารถรักษาแผลที่ถูกตัดจากการนำไปย้ายปลูกได้อย่างรวดเร็ว ในทางตรงข้าม ฟองน้ำมีอัตราการตายสูงขึ้นบริเวณที่ตื้นที่มีความเข้มแสงสูงในช่วงฤดูร้อน อาจเนื่องมาจาก แสงมีส่วนช่วยให้สาหร่ายเติบโตได้ดี และสาหร่ายสามารถขึ้นปกคลุมฟองน้ำได้อย่างรวดเร็ว (Kaandorp and de Kluijver, 1992) รวมถึง แสงทำให้อัตราการรักษาแผลที่เกิดจากการตัดช้าลง (Hoppe, 1998) นอกจากนั้นการที่ฟองน้ำ *R. agminata* มีอัตราการเติบโตสูงสุดนั้น อาจเนื่องมาจากเป็นฟองน้ำเคลือบที่มีลักษณะสัณฐานเปลี่ยนแปลงตามลักษณะของพื้นผิว ซึ่งอัตราการเติบโตและอัตรารอดสูงสุดนี้ได้รับอิทธิพลจากพื้นที่ศึกษาด้วย เช่น บริเวณที่คลื่นลมสงบ หรือ อับคลื่นลม เนื่องจากหากเป็นสถานที่ที่ได้รับอิทธิพลจากคลื่นลมแรง พบว่าฟองน้ำ *R. agminata* มีน้ำหนักลดลงและมีอัตราการตายสูงเช่นเดียวกับในพื้นที่เพาะเลี้ยงฟองน้ำ *R. topsenti* ที่มีคลื่นลมแรงทำให้การเพาะเลี้ยงไม่ประสบความสำเร็จ (Duckworth *et al.*, 1997) ในการทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Mycale hentscheli* เพื่อผลิตสาร mycalamide A สาร pateamine และสาร peloruside A โดยเปรียบเทียบการเลี้ยงชิ้นของฟองน้ำที่ตัดแบ่งออกมาจากก้อนฟองน้ำตั้งต้นในสถานที่แตกต่างกัน ได้แก่ บริเวณที่พบฟองน้ำชนิดนี้ตามธรรมชาติซึ่งได้รับอิทธิพลจากแม่น้ำ และบริเวณที่อุณหภูมิของน้ำไม่เปลี่ยนแปลงมากนักเนื่องจากการผสมมวลน้ำโดยลม พบว่า ฟองน้ำที่เลี้ยงในทั้งสองบริเวณ มีการเติบโตที่ดีและไม่พบความแตกต่างทางสถิติ โดยการเติบโตลดลงในช่วงฤดูหนาวและเพิ่มสูงขึ้นตามอุณหภูมิของน้ำในฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน นอกจากนี้ ยังสามารถให้ผลผลิตสารภายหลังการเลี้ยงได้ โดยเฉพาะ สาร

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

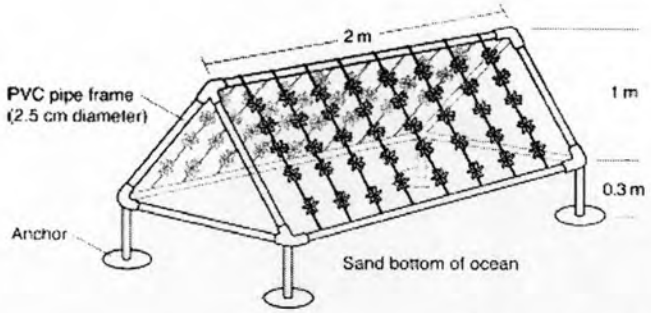
ดังนั้น เพื่อลดปัจจัยจากธรรมชาติ และควบคุมปัจจัยการเพาะเลี้ยงให้มีประสิทธิภาพสูงสุด จึงมีการนำการเลี้ยงในระบบเลี้ยงมาใช้ Mendola (2003) รายงานการเลี้ยงฟองน้ำ *Acanthella cavernosa* ที่นำมาจากประเทศฟิจิมาทำการเลี้ยงในระบบเลี้ยงที่รัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา พบว่า อัตรารอดของฟองน้ำ *A. cavernosa* ภายหลังการเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน สูงถึง 81 เปอร์เซ็นต์ และให้สาร kalihinanes 3 ชนิด รวม 0.48±0.007 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) นอกจากนั้น จากการทดสอบสภาวะเครียดโดยเพิ่มปริมาณแสงจากปกติ พบว่า ผลผลิตของ kalihinanes ไม่เพิ่มขึ้นตามทฤษฎีการเพิ่มภาวะเครียดที่ทำให้ฟองน้ำหรือสิ่งมีชีวิตอื่นที่สามารถผลิตสารธรรมชาติ เพื่อป้องกันตนเองเพิ่มขึ้น แต่ค่าดังกล่าวกลับลดลง อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้บ่งบอกถึงความเป็นไปได้ในการเลี้ยงฟองน้ำให้มีอัตราการเติบโตและอัตรารอดสูง การเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมเชิงอุตสาหกรรมเริ่มขึ้นหลังจากที่มีการค้นพบการสกัดสาร Ecteinascidins เพื่อใช้บำบัดโรคมะเร็งจากเพรียงหัวหอม *E. turbinata* โดยมีรายงานการเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอม *E. turbinata* ในระบบเลี้ยงและในทะเลที่มลรัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา (Mendola 2000, 2003) การเลี้ยงในระบบเลี้ยงอาศัยน้ำทะเลธรรมชาติหมุนเวียนอย่างต่อเนื่อง ให้อาหารแตกต่างกัน 3 ประเภท ได้แก่ สาหร่ายมีชีวิต อาหารสำเร็จรูปแบบ micro-encapsulated และ micro-particulate ผสมเข้าด้วยกัน วันละ 2 ครั้ง รวบรวมพ่อแม่พันธุ์เพรียงหัวหอมที่สมบูรณ์เพศจากธรรมชาติมาเลี้ยงไว้ในถังพ่อแม่พันธุ์ขนาด 50 ลิตร และทำการรวบรวมตัวอ่อนเมื่อถูกปล่อยออกจากพ่อแม่พันธุ์โดยอาศัยพฤติกรรมการตอบสนองต่อแสงของตัวอ่อน ตัวอ่อนในระยะแรกว่ายอยู่บริเวณผิวน้ำเนื่องจากอิทธิพลของแสง จึงทำการปล่อยให้น้ำล้นพาตัวอ่อนลงมาตามท่อลงสู่ถังที่จัดให้ตัวอ่อนลงเกาะที่บริเวณเชือกด้านล่าง (รูปที่ 2-4) เนื่องจากตัวอ่อนที่ถึงระยะทำการลงเกาะมีพฤติกรรมหนีแสง จึงว่ายน้ำเข้าหาบริเวณที่มืดกว่าและทำการลงเกาะบนเชือกดังกล่าว ทั้งนี้ พบว่า อัตราการลงเกาะของตัวอ่อนทั้งหมดสูงกว่า 86 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นจึงเริ่มกินอาหารและเติบโตจาก zooid เริ่มต้น พร้อมกับแตกหน่อกลายเป็นโคโลนีขนาดเล็กภายใน 45–60 วัน ทำการย้ายเชือกที่เพรียงหัวหอมได้ลงเกาะไปเลี้ยงในทะเลโดยใช้ท่อพีวีซีเป็นโครงสร้างยึดติดบนพื้นทะเล ซึ่งเคลือบสารป้องกันสัตว์อื่นมาเกาะติดบนที่ว่างบนเชือก (รูปที่ 2-5) โคโลนีเริ่มต้นเติบโตอย่างรวดเร็วโดยการแตกหน่อคลุมเส้นเชือก ยาว 1.2 เมตร ในระยะเวลาที่สั้นที่สุดที่ 35 วัน (ช่วงระยะเวลาเฉลี่ยในทุกฤดูกาล 45–90 วัน) คิดเป็นมวลชีวภาพโดยเฉลี่ยของเพรียงหัวหอม 400 กรัม (น้ำหนักเปียก) ต่อความยาวเชือก 1 เมตร รอบการเลี้ยงโดยเฉลี่ย 60 วัน หรือ 6 รอบต่อปี ผลผลิตเฉลี่ยโดยรวม 1 ปี เท่ากับ 1,200 กรัมต่อเส้นเชือก หรือผลผลิตทั้งโครงการ 16,000 กิโลกรัม/เฮกเตอร์ เมื่อคำนวณผลผลิตการสกัดสารกลุ่ม ET ซึ่งอยู่ระหว่าง 1.0–8.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) พบว่ามีค่าสูงกว่าผลผลิตที่ได้จากเพรียงหัวหอมธรรมชาติที่อยู่ระหว่าง 16-138 กรัม/ปี (Mendola, 2003) สำหรับการเลี้ยงในระบบเลี้ยงบนบก พบว่า ผลผลิตและระยะเวลาใน

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



ที่มา: Mendola (2003)

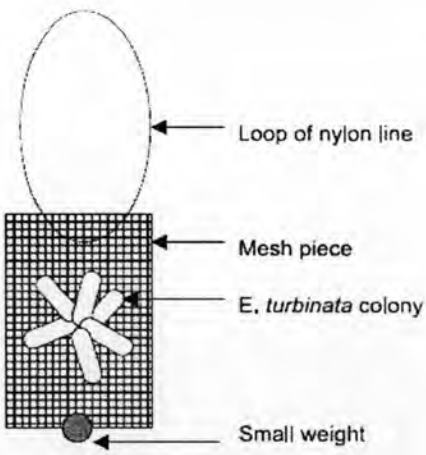
รูปที่ 2-4. ระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์และถังรวบรวมตัวอ่อนเพรียงหัวหอม *E. turbinata* บนบก



ที่มา: Mendola (2003)

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

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



ที่มา: Duckworth *et al.* (2004)

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

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

เพรียงหัวหอม เช่น วงจรชีวิต พัฒนาการของตัวอ่อน พฤติกรรมการลงเกาะและหลังการลงเกาะ เพื่อการเพาะเลี้ยงเท่านั้น (ปิยะ โกยสิน, 2548) การศึกษาปัจจัยทางกายภาพ เช่น แสง ความเค็ม อุณหภูมิ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพรียงหัวหอมในการผลิตสาร ET ให้เพียงพอกับความต้องการจึงมีความจำเป็นอย่างมากในอนาคตต่อไป