รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

นภรรณพ บุญถนอม และ ปิติ จันทรวรโชติ. 2544. การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านมะเร็ง ecteinascidin alkaloids จากเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia* sp. ของไทย. ปริญญานิพนธ์, ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาเภสัชเวท, คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปิยะ โกยสิน. 2548. ชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 เพื่อการเพาะเลี้ยง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาอังกฤษ

Anderson, D. T., White, B. M. and Egan, E. A. 1975. The larval development and metamophosis of the ascidians *Pyura praeputialis* (Heller) and *Pyura pachydermatina* (Herdman) (Pleurogona, family Pyuridae). **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales** 100: 205–217.

Bates, W. R. 2005. Environment factors affecting reproduction and development in ascidians and other protochordates. **Canadian Journal of Zoology** 83: 51–56.

Bullard, S. G., Lambert, G., Carman, M. R. Byrnes, J., Whitlatch, R. B., Ruiz, Z., Miller, R. J., Harris, L., Valentine, P. C., Collie, J. S., Pederson, J., McNaught, D. C., Cohen, A. N., Asch, R. G., Dijkstra, J. and Heinonen, K. 2007. The colonial ascidian *Didemnum* sp. A: Current distribution, basic biology and potential threat to marine communities of the northeast and west coasts of North America. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 99-108.

Canonico, P. G., Pannier, W. L., Huggins, J. W. and Rinehart, K. L. 1982. In hibition of RNA viruses *in vitro* and in rift Valley fever-infected mice by didemnins A and B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 22 : 696–697.

Carballo, J. L., Naranjo, S., Kukurtz, B., Calle, F. L. and Zanuy, A. H. 2000. Production of *Ecteinascidia turbinata* (Ascidiacea: Perophoridae) for Obtaining Anticancer Compounds. **Journal of the World Auaculture Society** 31: 481-490. (Abstract only)

Charupant, K. 2000. **Chemical constituents of a Thai *Ecteinascidia* tunicate.** Master' s Thesis, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

Chavanich, S., Koeysin, P., Viyakarn, V., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., Suwanborirux, K and Poovachiranon, S. 2005. A tunicate from Thai coral reef: a potential source of new anticancer compounds. **Coral Reefs** 24: 621.

Cloney, R. A. 1990. Larva tunic and the function of the test cells in ascidians. **Acta Zoologica** 71: 9–151.

Degnan, B. M., Rohde, P. R. and Lavin, M. F. 1996. Normal development and embryonic gene activity of the ascidian *Herdmania momus*. **Marine and Freshwater Research** 47: 543–551.

Donia, M. and Hamann, M. T. 2003. Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. **Lancet Infectious Diseases** 3: 338–348.

Duckworth, A. R., Battershill, C. N. and Bergquist, P. R. 1977. Influence of explant procedures and environmental factor on culture success of three sponges. **Aquaculture** 156: 251-267.

Duckworth, A. and Battershill, C. 2003. Sponge aquaculture for the production of biologically active metabolites: the influence of farming protocols and environment. **Aquaculture** 221: 311-329.

Duckworth, A. R., Samples, G. A, Wright, A. E. and Pomponi, S. A. 2004. *In vitro* culture of the ascidian *Ecteinascidia turbinata* to supply the antitumor compounds ecteinascidins. **Aquaculture** 241: 427–439.

Duggins, D. O., Eckman J. E., and Sewell A. T. 1990. Ecology of understory kelp environments. II. Effects of kelps on recruitment of benthic invertebrates. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 143 : 27–45.

Forward, R. B. Jr., Welch, J. M. and Young, C. M. 2000. Light induced larval release of a colonial ascidian. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 248: 225–238.

Gittenberger, A. 2007. Recent population expansion of non-native ascidians in The Netherlands. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 122-126.

Glasby, T. M. 1999. Effects of shading on subtidal epibiotic assemblages. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 234: 275–290.

Goodbody, I. 2004. Diversity and distribution of Ascidians (Tunicata) at twin cay, Belize. **Atoll Research Bulletin** 524: 1-22.

Hart, J. B., Lill, R. E., Hickford, S. J. H., Blunt, J. W. and Munro, M. H. G. 2000. The halichondrins: chemistry, biology, supply and delivery. **Drugs from the Sea** 134-153.

Hendriks, H. R., Fiebig, H. H., Giavazzi, R., Langdon, S. P., Jimeno, J. M. and Faircloth, G. T. 1999. High antitumor activity of ET 743 against human tumor xenografts from melanoma, non-small-cell Lung and ovarian cancer. **Annals of Oncology** 10 : 1233–1240.

Hickman, C. P. 1973. **Biology of the Invertebrates**. 2nd ed. Saint Louis: The C. V. Mosby Company.

Hoppe, W. F. 1988. Growth, regeneration and predation in three species of large coral reef sponges. **Marine Ecology Progress Series** 50: 117–125.

Kaandorp, J. A. and de Kluijver, M. J. 1992. Verification of fractal growth medels of the sponge *Haliclona oculata* (Porifera) with transplantation experiments. **Marine Biology** 113: 133–143.

Kennelly, S. J. 1989. Effects of kelp canopies on understorey species due to shade and scour. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 50: 215–224.

Kerr, R. G. and Kerr, S. S. 1999. Marine natural products as therapeutic agents. **Expert Opinion on Therapeutic Patents** 9: 1207–1222.

Lambert, C. C. 2005. Historical introduction, overview, and reproductive biology of the protochordates. **Canadian Journal of Zoology** 83: 1–7.

Lambert, G. 2002. Nonindigenous Ascidians in Tropical Waters. Pacific Science. 56: 291-298.

Lambert, G. 2007. Invasive sea squirts: A growing global problem. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 3-4.

Locke, A. Hanson, J. M., Ellis, K. M., Thomson, J. and Rochette, R. 2007. Tnvasion of the southern Gulf of St. Lawrence by the clubbed tunicate (*Styela clava* Herdman): Potential mechanisms of invasions of Prince Edward Island estuaries. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 69-77.

Mendola, D. 2000. Aquacultural production of bryostatin I and ecteinascidin 743. **Drugs from the Sea** 120-133.

Mendola, D. 2003. Aquaculture of three phyla of marine invertebrates to yield bioactive metabolites: process developments and economics. **Biomolecular Engineering** 20: 441-458.

Page, M. J., Northcote, P. T., Webb, V. L., Mackey, S. and Handley, S. J. 2005. Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae : Poecilosclrida). **Aquaculture** 250: 256–269.

Proksch, P., Edrada-Ebel, R. A. and Ebel, R. 2002. Drugs from the sea – Current status and microbiological implications. **Applied Microbiology and Biotechnology** 59: 125–134.

Proksch, P., Edrada-Ebel, R. A. and Ebel, R. 2003. Drugs from the Sea – Opportunities and obstacles. **Marine Drugs** 1: 5–17.

Rinehart, K. L., Gloer, J. B., Hughes, R. G., Renis, H. E., McGovren, J. P., Swynenberg, E. B., Stringfellow, D. A., Kuentzel, S. L., and Li, L. H. 1981. Didemnins: Antiviral and antitumor depsipeptides from a Caribbean tunicate. **Science** 212: 933–935.

Rinehart, K. L., Holt, T. G., Fregeau, N. L., Keifer, P. A., Wilson, G. R., Perun Jr., T. J., Sakai, R., Thompson, A. G., Stroh, J. G., Shield, L. S., Seigler, D. S., Li, L. H., Martin, D. G., Grimmelikhuijzen, J. P. G. and Gade, G. 1990. Bioactive compounds from aquatic and terrestrial sources. **Journal of Natural Products** 53(4): 771–792.

Ruppert, E. E. and Barnes, R. D. 1994. **Invertebrate Zoology.** 6th Edition. U.S.A.: Saunders College Publishing.

G. R. and Heid, R. M. 1996. Structure-Activity relationships of didemnins. **Journal of Medicinal Chemistry** 39: 2819–2834.

Scotto, K. W. 2002. ET-743: A novel marine-derived anti-tumor agent. **Anti-Cancer Drugs** 13: 3–6.

Suwanborirux, K., Charupant, K., Amnuoypol, S., Pummangura, S., Kubo, A. and Saito, N. 2002. Ecteinascidins 770 and 786 from the Thai tunicate *Ecteinascidia thurstoni*. **Journal of Natural Products** 65: 935–937.

Svane, I. and Dolmer, P. 1995. Perception of light at settlement: A comparative study of two invertebrate larvae, a scyphozoan planula and a simple ascidian tadpole. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 187: 51–61.

Thiyagarajan, V. and Qian, P. 2003. Effect of temperature, salinity and delayed attachment on development of the solitary ascidian *Styela plicata* (Lesueur). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 290**: 133–146.

Tyrrell, M. C. and Byers, J. E. 2007. Do artificial substrates favor nonindigenous fouling species over native species?. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 54-60.

Valentine, P. C., Carman, M. R., Blackwood, D. S. and Heffron, E. 2007. Ecological observations on the colonial ascidian *Didemnum* sp. In a New England tide pool habitat. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 109-121.

Vázquez, E. and Young, C. M. 2000. Effects of low salinity on metamorphosis in estuarine colonial ascidians. **Inbertebrate Biology** 119: 433-444. (Abstract only)

Wright, A. E., Folreo, A. D., Gunawardana, P. G., Gunasekera, P. S., Koehn, E. F. and McConnell, J. O. 1990. Antitumor tetrahydroisoquinoline alkaloids from the colonial ascidian *Ecteinascidia turbinata*. **Journal of Organic Chemistry** 55: 4508–4512.

Young, C. M. and Vazquez, E. 1995. Morphology, larval development, and distribution of *Bathypera feminalba* n. sp. (Ascidiacea: Pyundae) a deep-water ascidian from the fjords and sounds of British Columbia. **Inbertebrate Biology** 114: 89–106.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ขั้นตอนการคำนวณการเตรียม Phosphate buffer solution

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

NAOH มี Molecular weight (MW) = 40

จาก $\frac{\text{น้ำหนัก (g)}}{\text{MW}} = \text{mol}$

$\frac{g}{40} = 0.2$

ดังนั้น g = 8 g/L

และจาก M = mol/L

หากต้องเตรียม solution 200 ml

จะต้องชั่ง NAOH มา 1.6 g ละลายในน้ำ 200 ml

KH_2PO_4 มี Molecular weight (MW) = 136.09

จาก $\frac{\text{น้ำหนัก (g)}}{\text{MW}} = \text{mol}$

$\frac{g}{136.09} = 0.2$

ดังนั้น g = 27.218 g/L = ประมาณ 27 g/L

และจาก M = mol/L

หากต้องการเตรียม solution 200 ml

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

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

การคำนวณการใช้ KCN

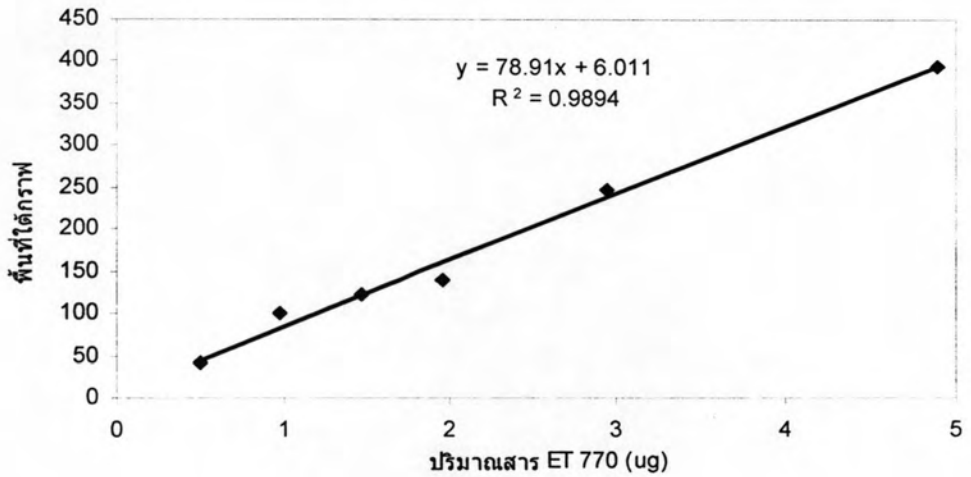
เตรียม KCN solution โดยใช้ KCN 10 g ในน้ำ 100 มิลลิลิตร ดังนั้นจะได้ KCN 10% g / ml

การคำนวณ (KCN มี MW = 65.12)

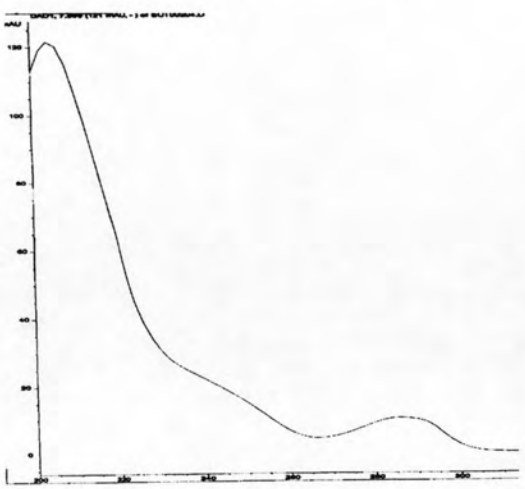
ปริมาณตัวอย่าง 1000 ml ใช้ KCN 10*65.12*103 กรัม

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

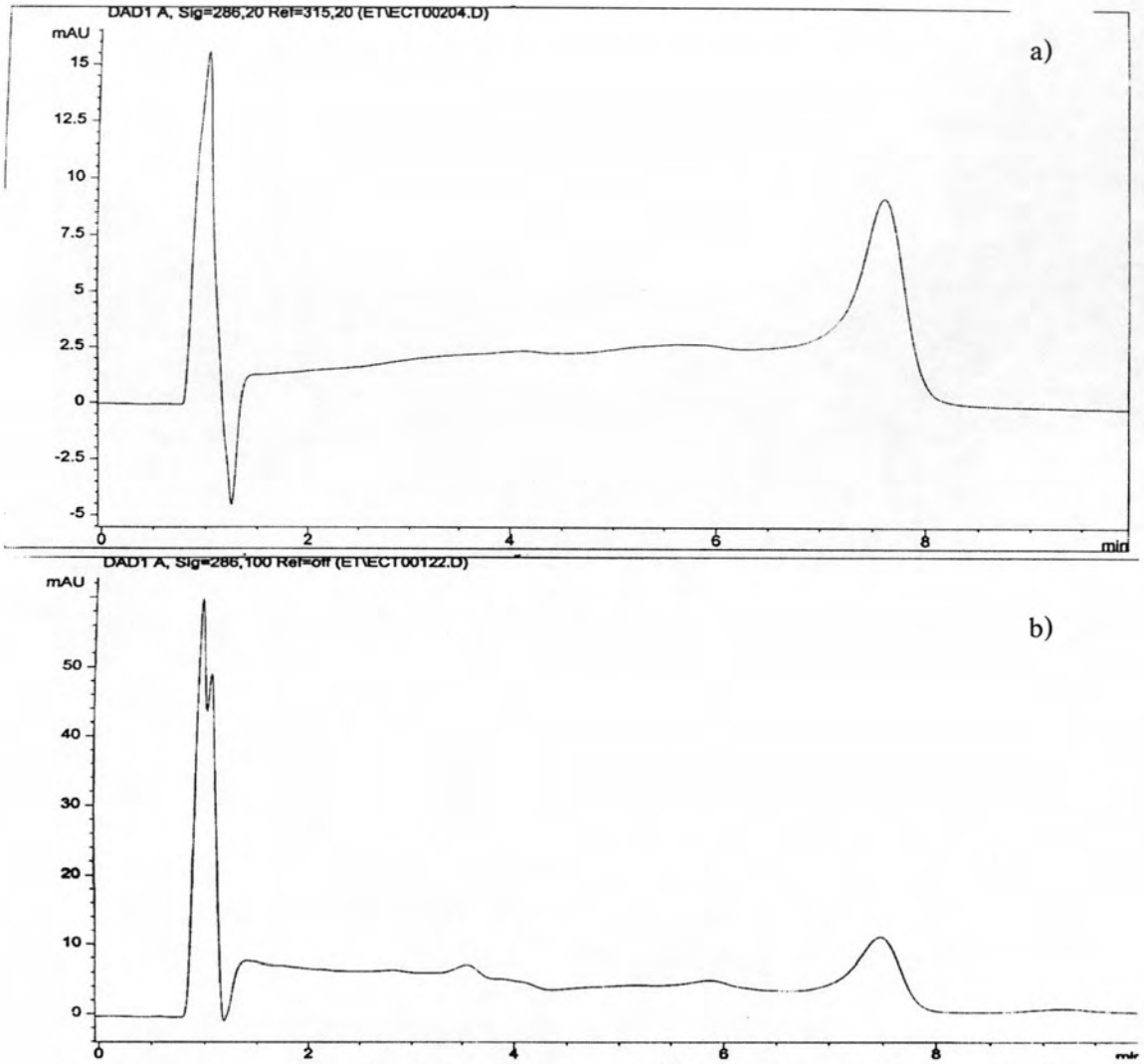
ค่ามาตรฐาน สาร ET 770



ภาคผนวก ก-1. ค่ามาตรฐานสาร ET 770



ภาคผนวก ก-2. ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน ET 770

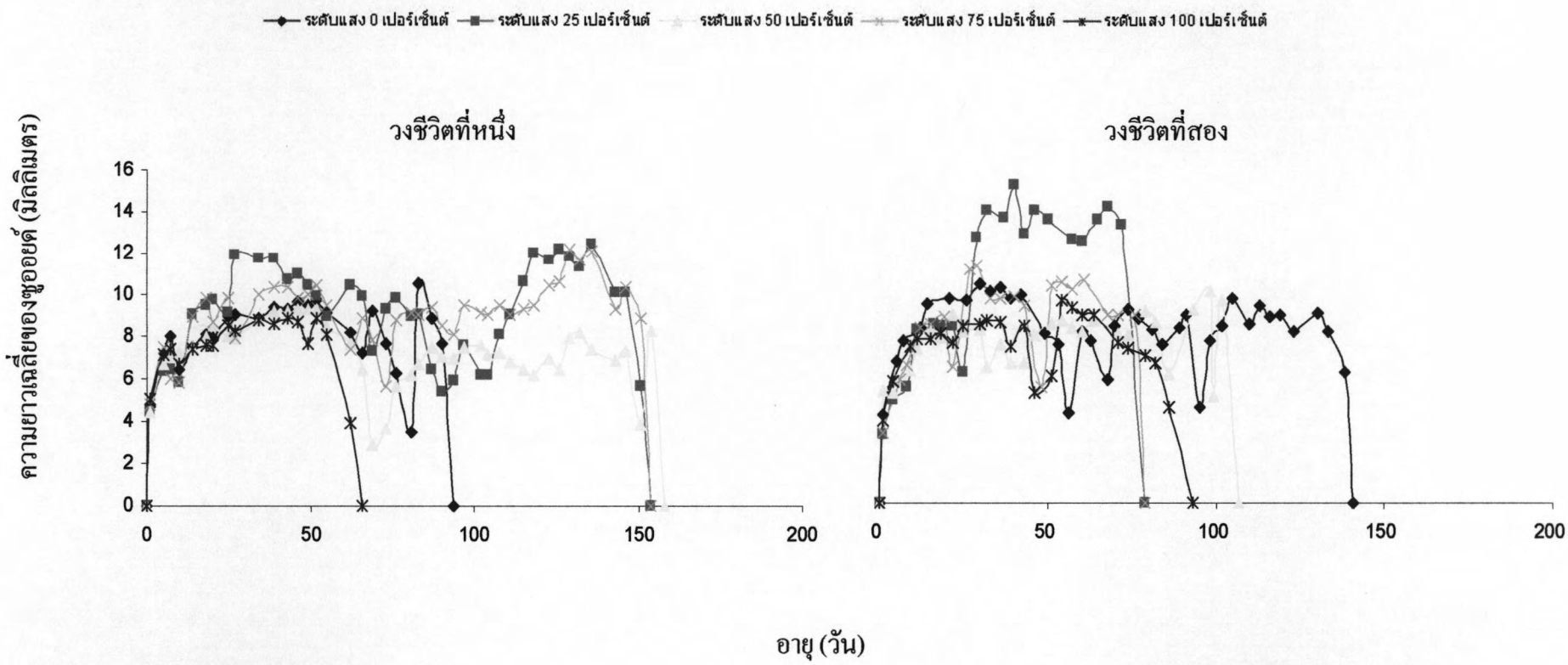


ภาคผนวก ก-3. โครมาโทแกรมของสาร ET 770 มีค่า retention time เท่ากับ 7.6 นาที

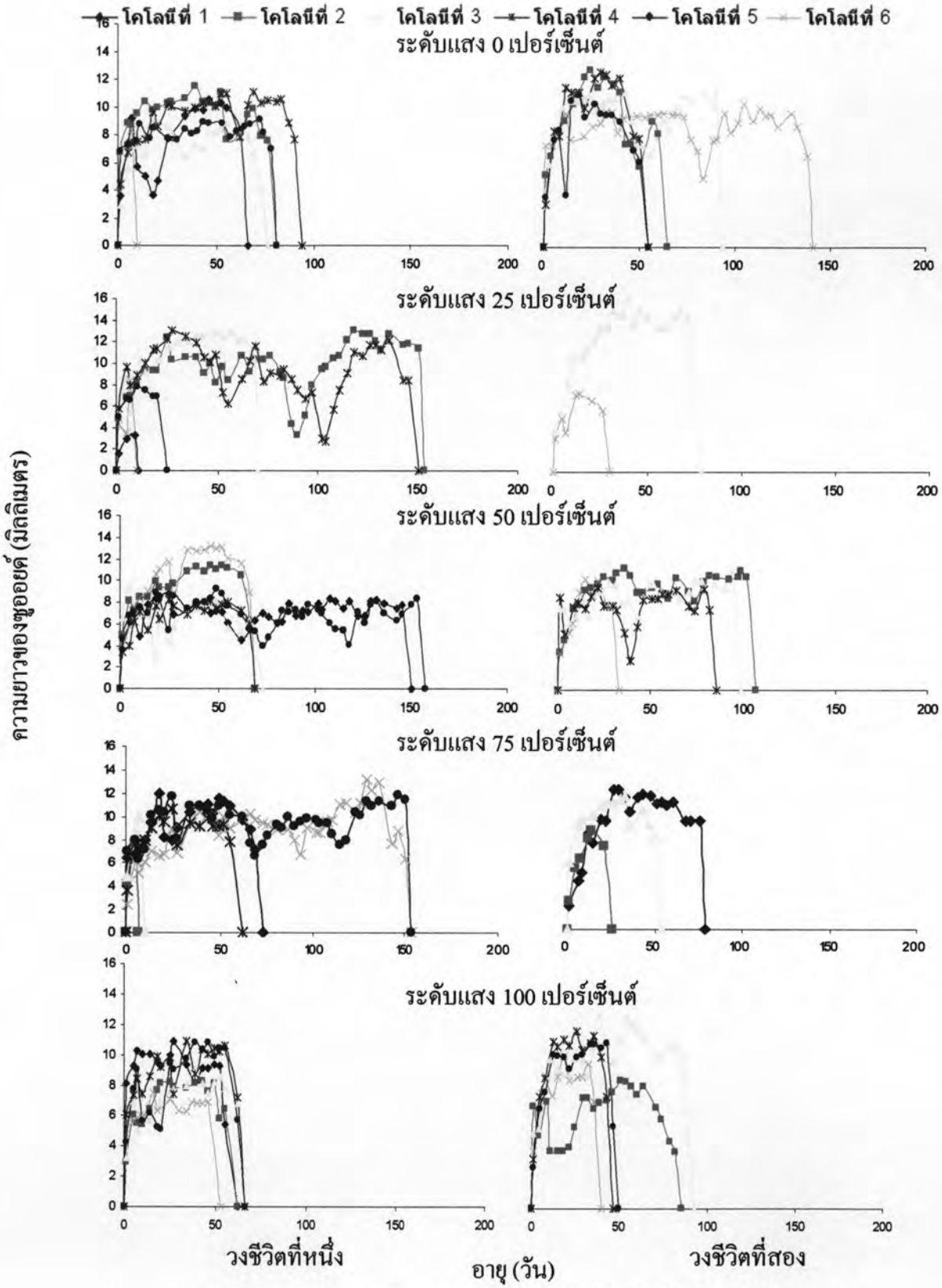
a) สารมาตรฐาน ET 770

b) สาร ET 770 ที่เพรียงหัวหอมจากการเลี้ยงผลิต

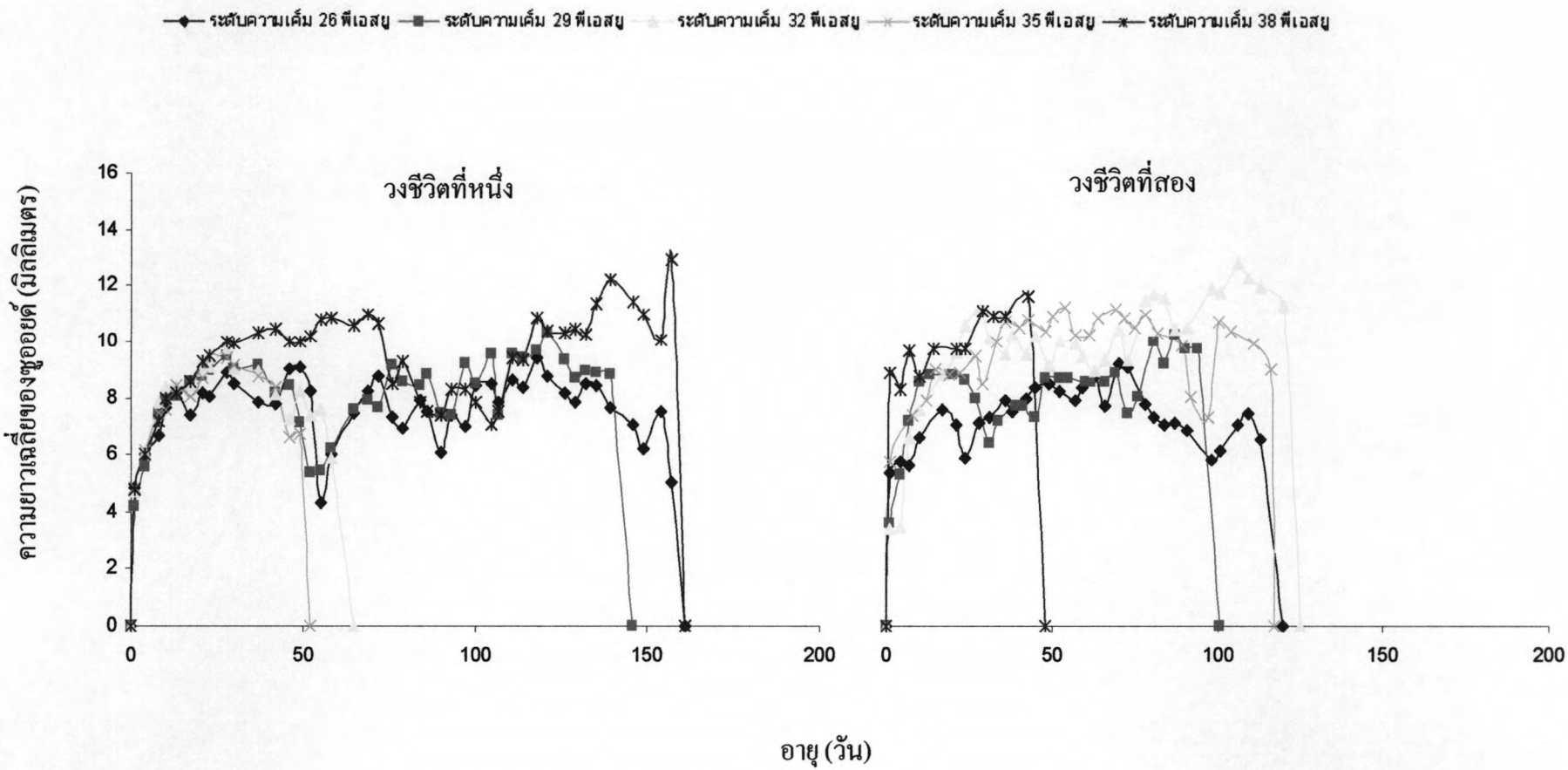
ภาคผนวก ข



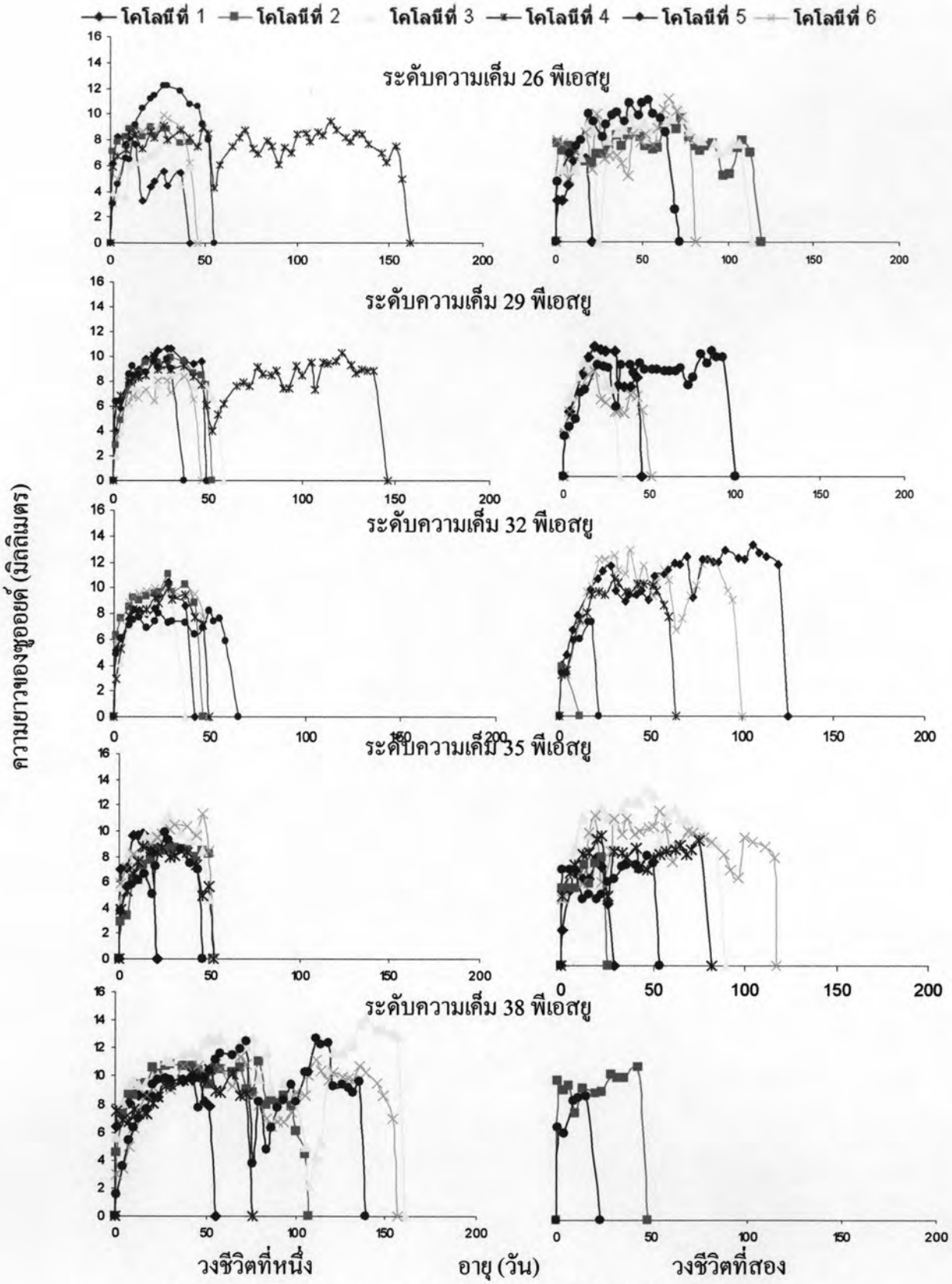
ภาคผนวก ข-1. ความยาวเฉลี่ยของซูออยด์เพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



ภาคผนวก ข-2. ความยาวซูออยด์ของโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน

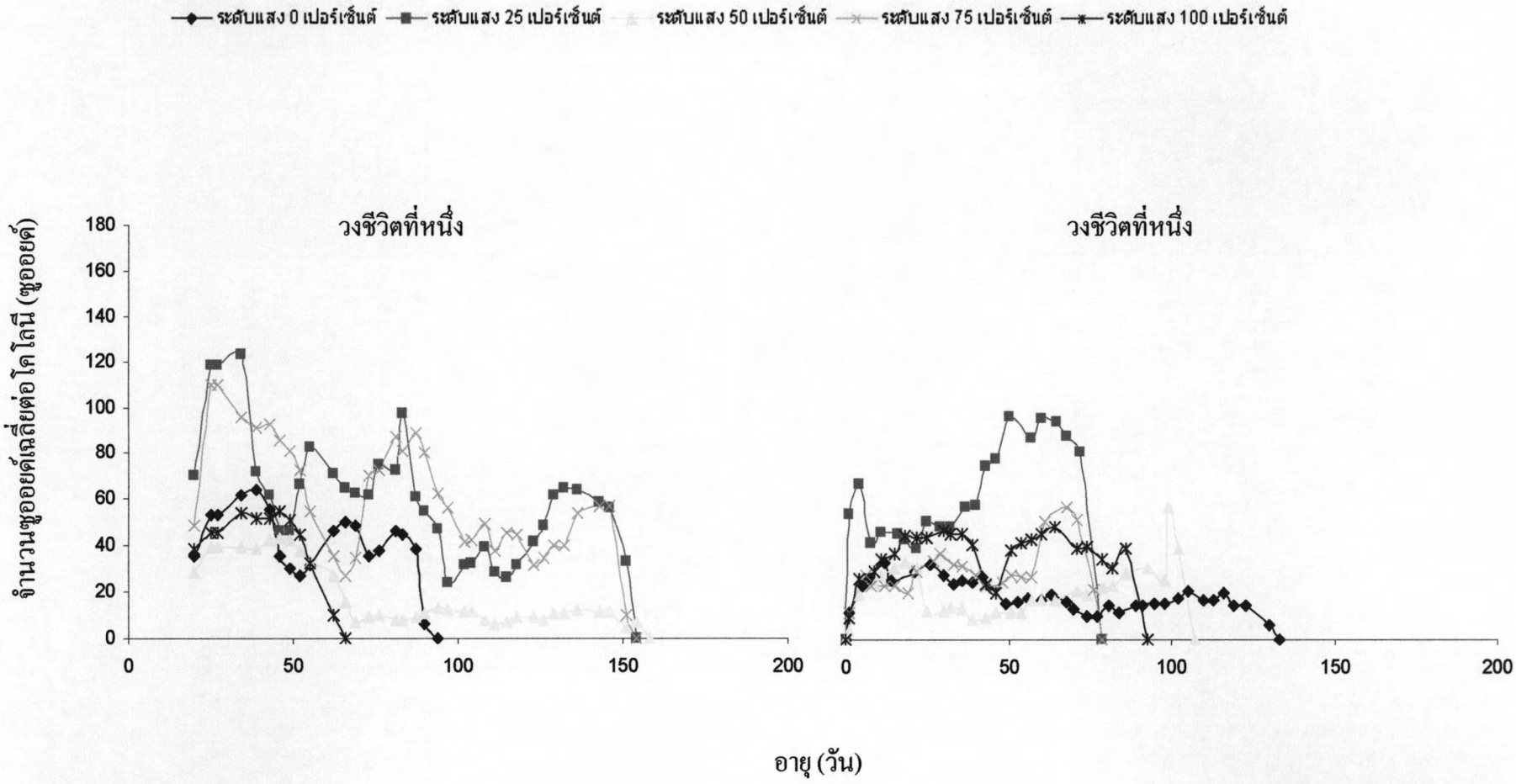


ภาคผนวก ข-3. ความยาวเฉลี่ยของซูออยด์เพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

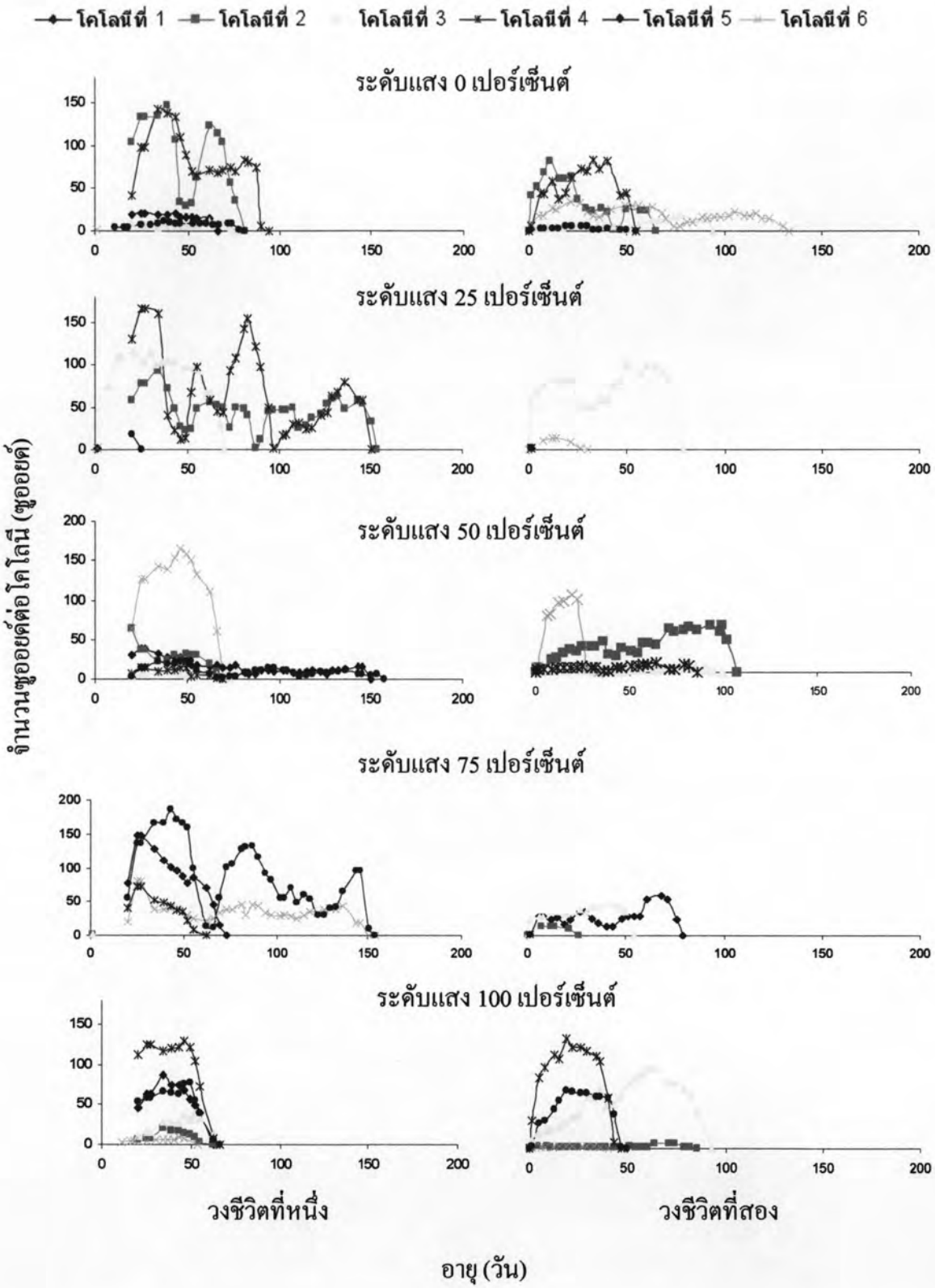


ภาคผนวก ข-4 ความยาวซูออยด์ของโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

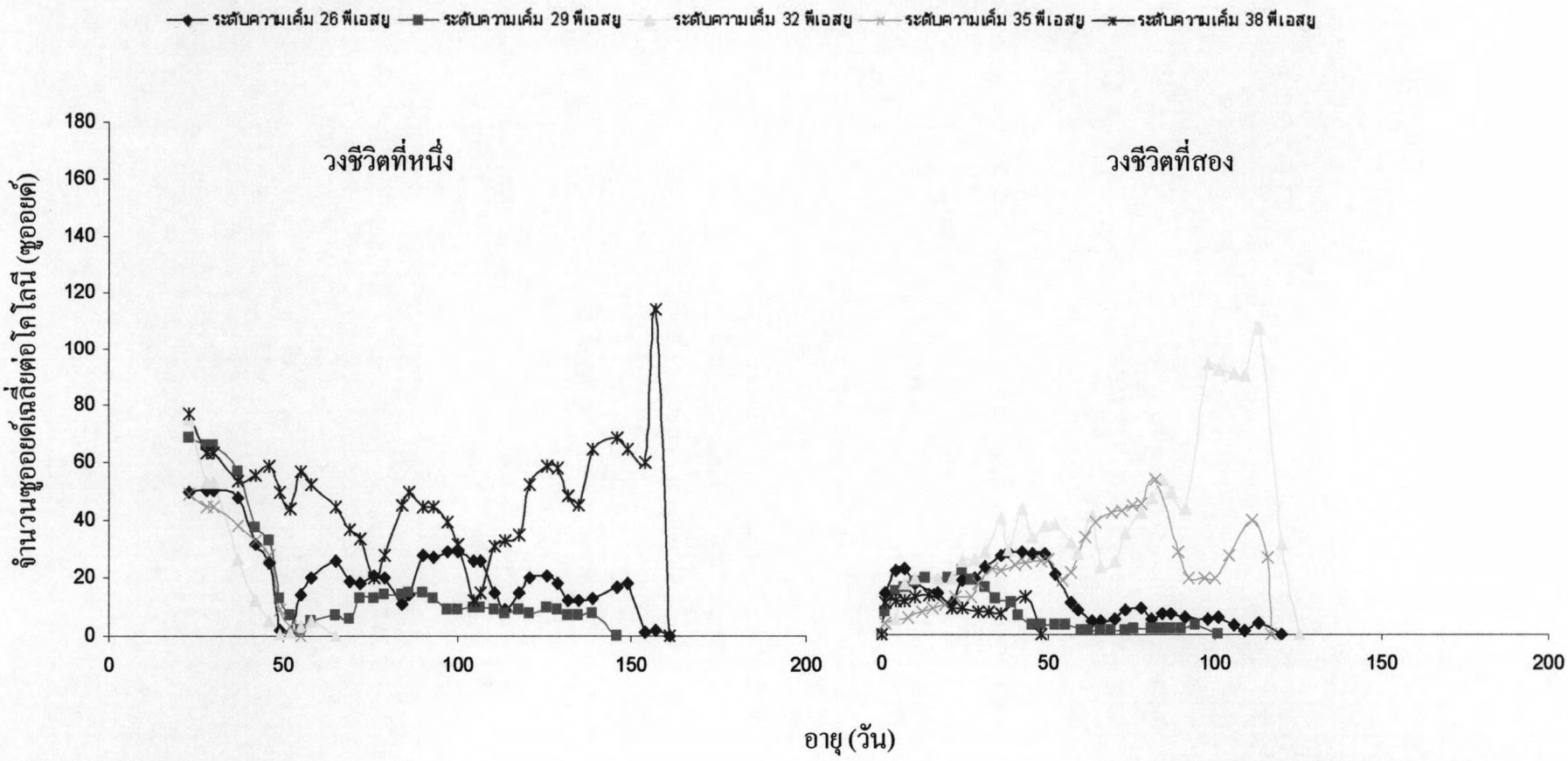
ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน



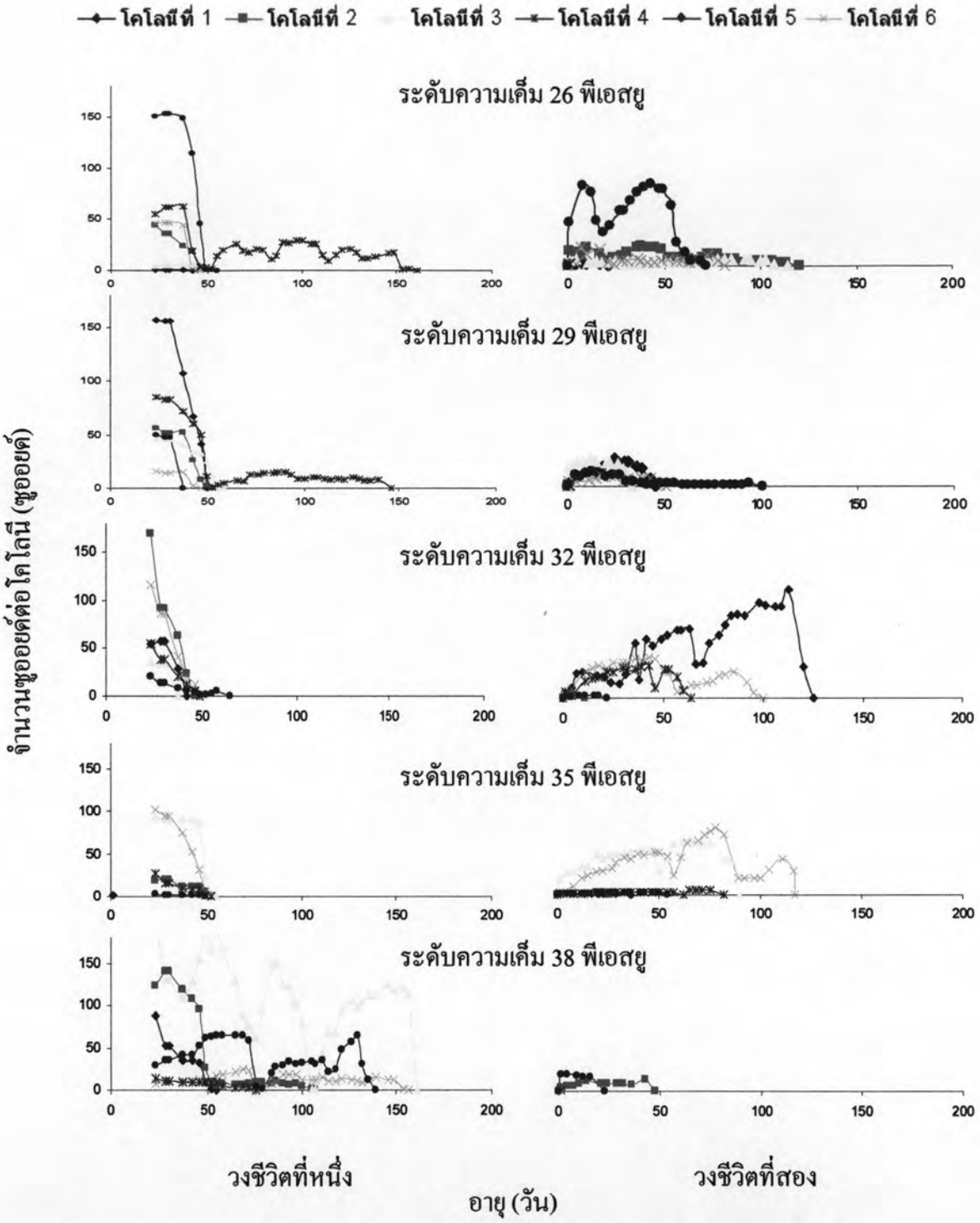
ภาคผนวก ข-5. จำนวนซูออยด์เฉลี่ยของโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



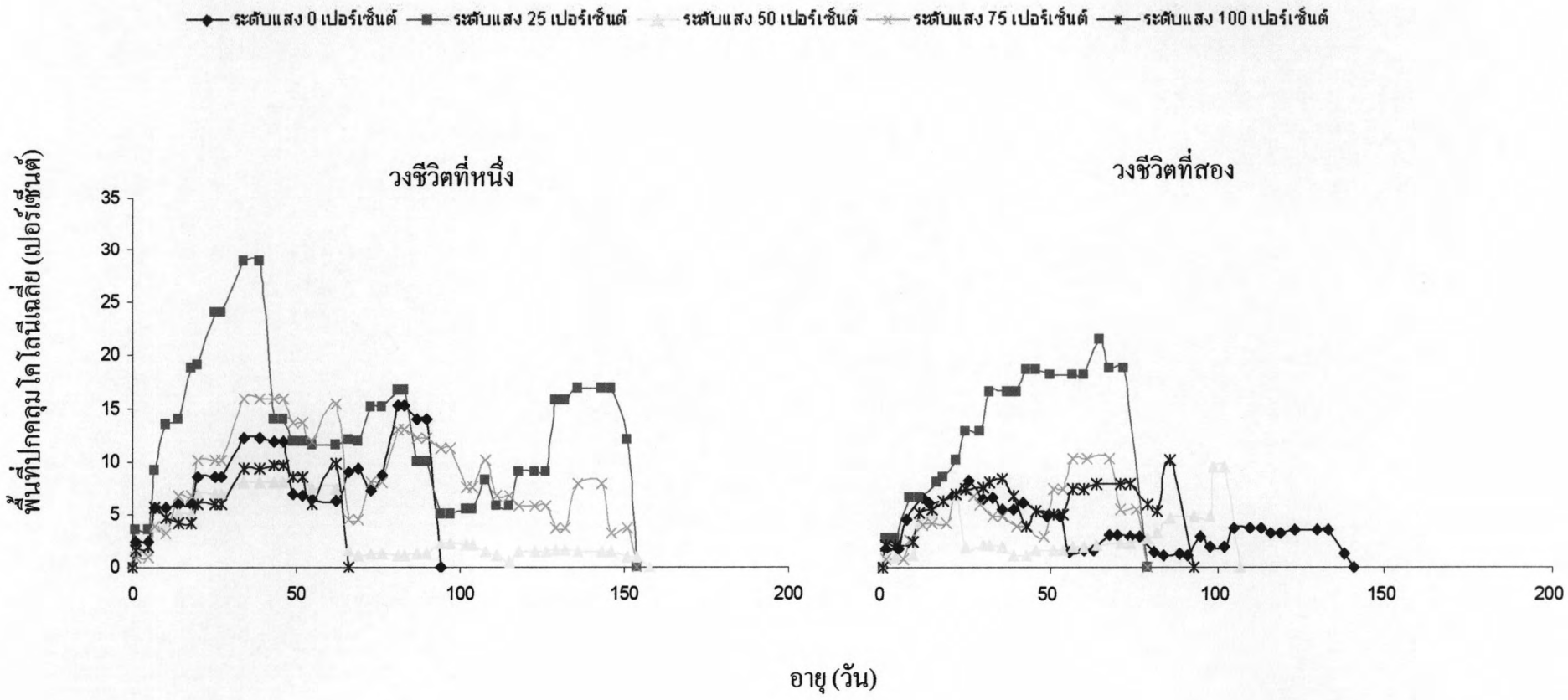
ภาคผนวก ข-6. จำนวนซูออยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



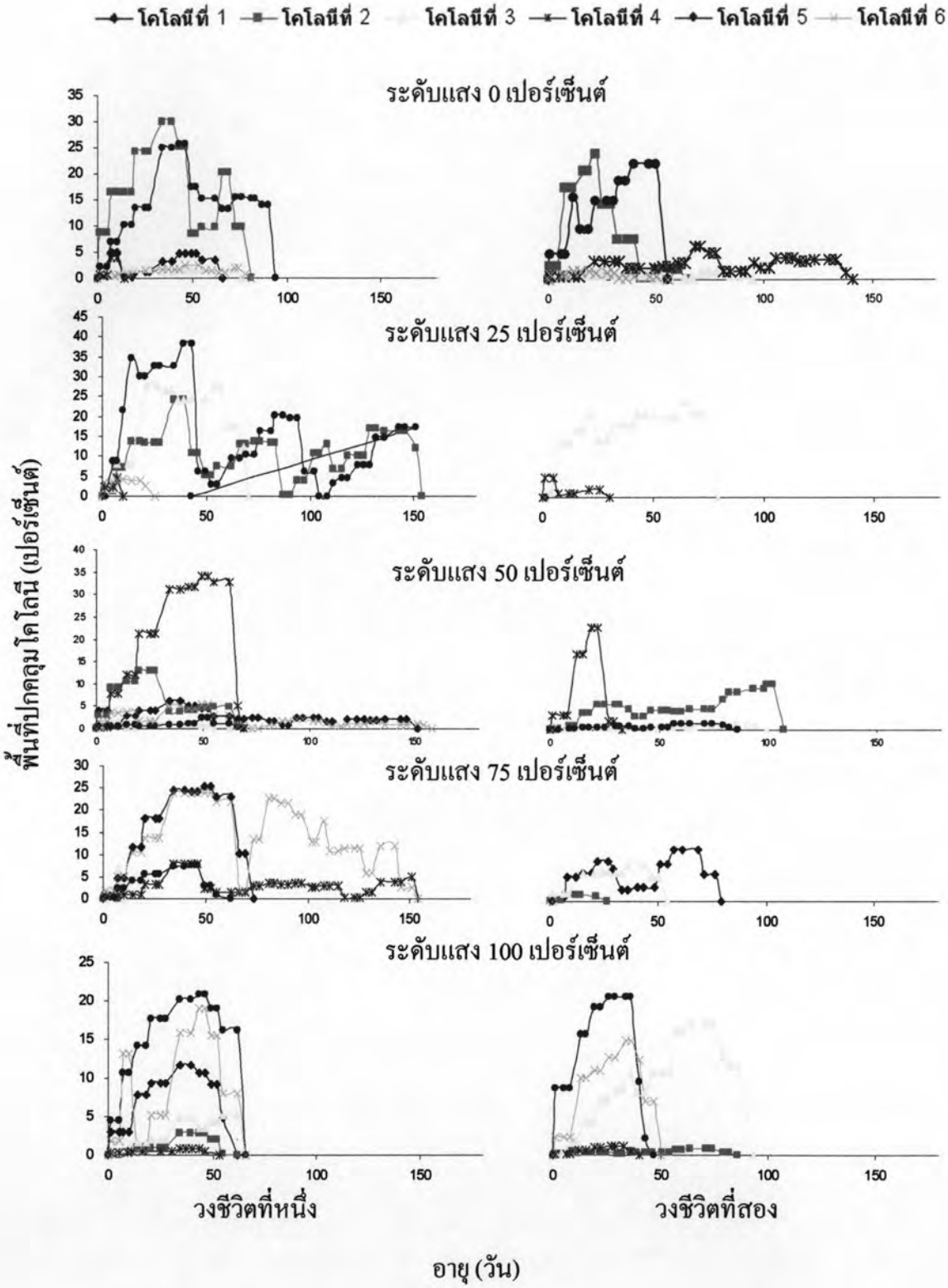
ภาคผนวก ข-7. จำนวนซูออยด์เฉลี่ยของโคโลนีเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน



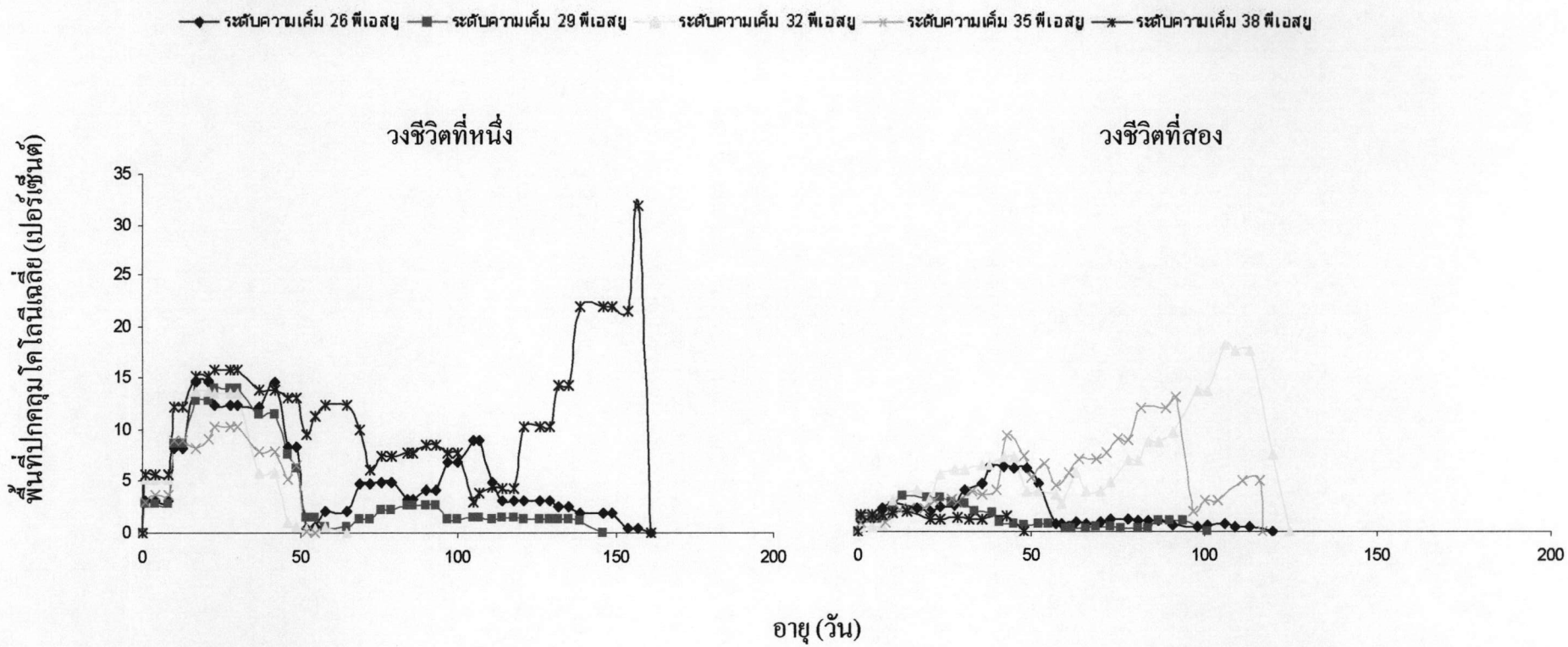
ภาคผนวก ข-8. จำนวนซูออยด์ต่อโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน



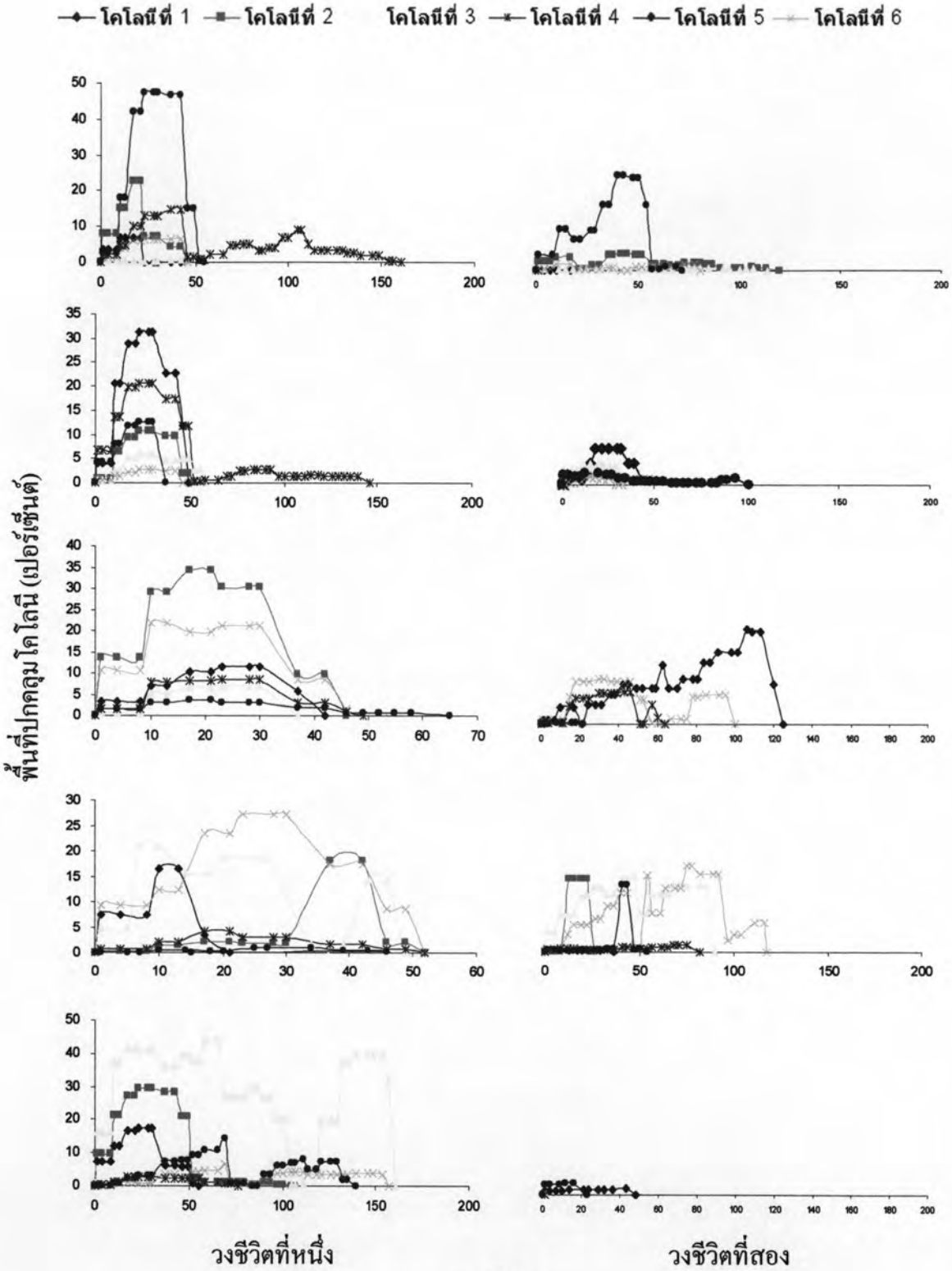
ภาคผนวก ข-9. พื้นที่ปกคลุมโคโลนีเฉลี่ยของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



ภาคผนวก ข-10. พื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



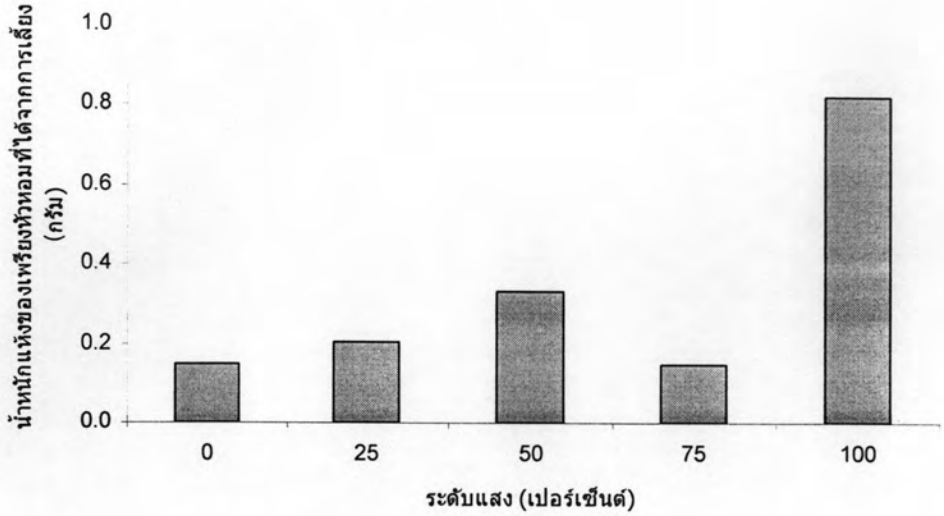
ภาคผนวก ข-11. พื้นที่ปกคลุมโคโลนีเฉลี่ยของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน



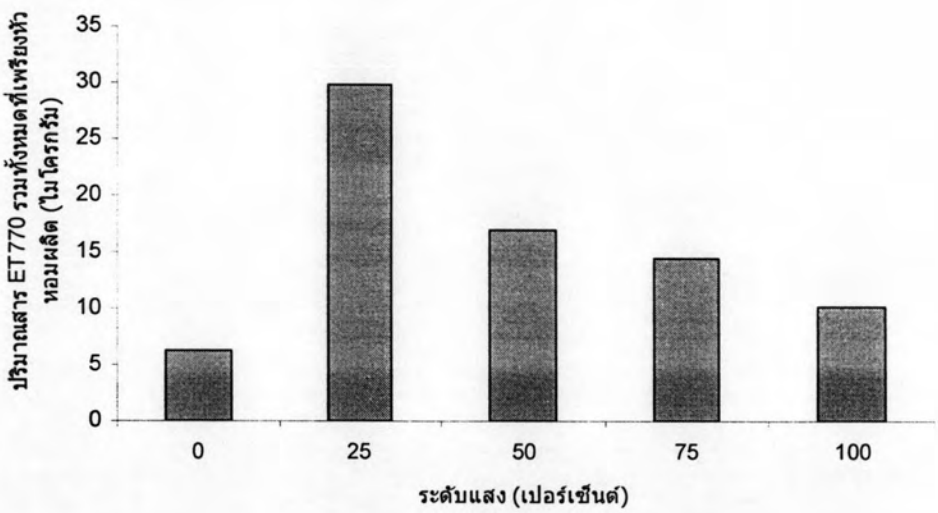
ภาคผนวก ข-12. พื้นที่ปกคลุมโคโลนีของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ในแต่ละวงชีวิตที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มที่แตกต่างกัน

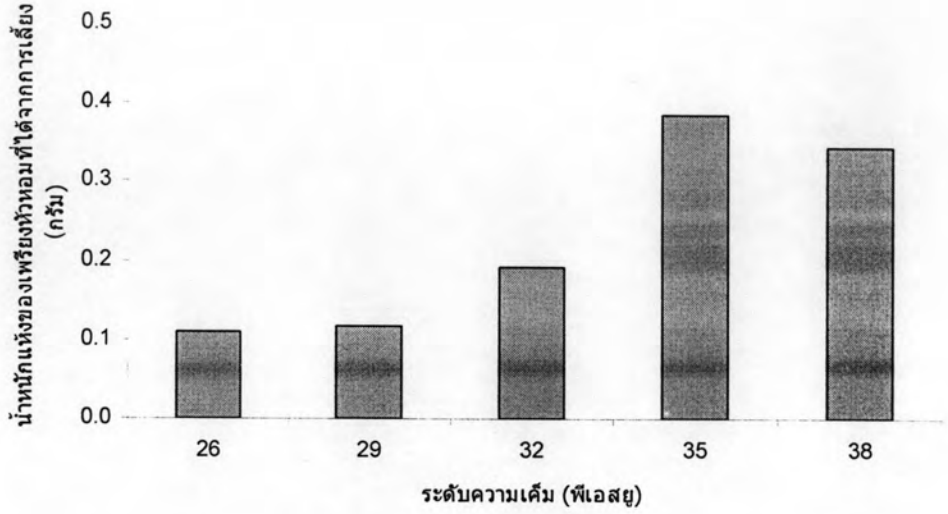
ภาคผนวก ค



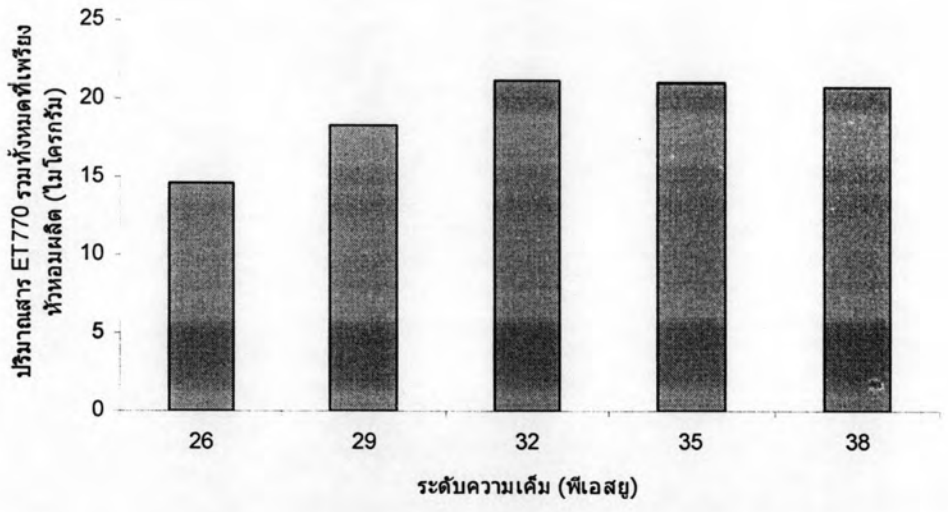
ภาคผนวก ค-1. ผลผลิตรวมของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



ภาคผนวก ค-2. ผลผลิตรวมของสาร ET 770 จากเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ที่เลี้ยงภายใต้ระดับแสงที่แตกต่างกัน



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



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

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

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