



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: ชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*
และปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโต

โดย อาจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์ และคณะ

มิถุนายน 2548

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: ชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*
และปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโต

คณะผู้วิจัย

1. อาจารย์ ดร. สุชนา ชวนิชย์

2. รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรวิจิตรกุล

สังกัด

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะ

วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะ

วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยทบวงมหาวิทยาลัย และ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ทบวงฯ และสกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันเพรียงหัวหอมได้รับความสนใจเนื่องจากสามารถเป็นแหล่งยารักษาโรคมะเร็งได้ ในประเทศไทย ได้มีการค้นพบเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* ที่สามารถสร้างสารอัลคาลอยด์ที่เรียกว่า ecteinascidins (ET) ได้แก่ Et 770 Et 786 ซึ่งสามารถแสดงฤทธิ์ความเป็นพิษสูงต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ เช่น breast, lung, colorectal และ nasopharyngeal tissues เพรียงหัวหอมชนิดนี้พบที่ภูเก็ต ลึกประมาณ 1-3 เมตร จากการศึกษพบว่า zooids ของเพรียงหัวหอมมีความยาวประมาณ 0.8-1.2 เซนติเมตร และพบได้ในช่วงเดือนมีนาคม กรกฎาคม และพฤศจิกายน ของทุกปี ในระบบทางเดินอาหารของ *E. thurstoni* พบแพลงก์ตอนขนาดเล็ก โดยส่วนใหญ่เป็นแพลงก์ตอนกลุ่ม Diatoms ได้แก่ *Navicula*, *Nitzschia*, และ *Thalassiosira* และกลุ่ม *Dinoflagellates* ได้แก่ *Protoperdinium*, *Prorocentrum*, และ *Triceratium* วงชีวิตของเพรียงหัวหอมประมาณ 60 วัน จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า เมื่อตัวอ่อนที่ว่ายน้ำอิสระหลุดออกมา จะมีการพัฒนาและลงเกาะภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และมีวงชีวิตประมาณ 3 อาทิตย์ จากการทดลองพบว่าความเค็มและความเข้มข้นของแสงไม่มีผลต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม เพรียงหัวหอมเป็นสัตว์ที่อยู่ในกลุ่ม fouling organisms ซึ่งสัตว์ในกลุ่มนี้มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมภายนอกได้สูง ซึ่งจากการทดลองพบว่าเพรียงหัวหอมสามารถที่จะดำรงชีวิตอยู่ได้เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของระดับความเค็มของน้ำทะเลและความเข้มแสง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเพรียงหัวหอมชนิดนี้สามารถที่จะถูกนำมาเพาะเลี้ยงได้ง่ายเนื่องจากมีความทนทานที่สูง

Abstract

Tunicates have attracted attention as potential sources of anti-cancer compounds. In Thailand, a colonial tunicate has been found on coral reefs. Subsequently it was identified as *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891. A group of alkaloids, the Ecteinascidins (Et), including Et 770 and Et 786, have been isolated with very high yields from *E. thurstoni* pretreated with potassium cyanide. These extracts exhibited potent cytotoxic activity against cancer cells of breast, lung, colorectal, and nasopharyngeal tissues. This tunicate is found at 1-3 meter depth in Phuket Province, southern Thailand, on the Andaman Sea coast. In this study, we found that the zooids of the tunicates range between 0.8-1.2 cm in height. The highest density and abundance of this tunicate is in March, July, and November each year. Analysis of stomach contents of the tunicate revealed the presence of the diatoms *Navicula*, *Nitzschia* and *Thalassiosira*, and dinoflagellates *Protoperdinium*, *Prorocentrum* and *Triceratium*. The life span of *E. thurstoni* is approximately 60 days. Laboratory observations showed that within 12 hours of release, 'tadpole like' larvae attached to surfaces by three anterior suckers. The 'tadpoles' then developed and metamorphosed into juvenile filter feeders within 24 hours, and the life span was approximately 3 weeks. In addition, the experiments were conducted to investigate the effects of salinity and light on growth of the tunicate. The results showed that there were no differences on the growth of tunicates between the different levels of salinity and light intensity. Tunicates are fouling organisms, which typically can withstand to the wide range of environment. From the experiments, this tunicate can tolerate to the wide range of salinity and light intensity. This characteristics can be beneficial for a future aquaculture.

หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันได้มีการผลิตยารักษามะเร็งขึ้นโดยใช้สารที่สกัดจากเพรียงหัวหอมทะเลชนิด *Ecteinascidia turbinata* เพรียงหัวหอมชนิดนี้สามารถพบได้ในทะเลคาบิเบียนเท่านั้น ในประเทศไทย เพรียงหัวหอมที่พบในสกุลนี้คือ *E. thurstoni* จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสัตว์ชนิดนี้สามารถสร้างสารกลุ่มเอคเตนาสคิดินที่แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆได้อย่างมีนัยสำคัญในปริมาณที่สูงเหมือนกับชนิด *E. turbinata* ซึ่งคาดการณ์ว่า *E. thurstoni* จะสามารถใช้เป็นแหล่งผลิตยารักษามะเร็งอีกแหล่งหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามความรู้ทางด้านชีววิทยาของ *E. thurstoni* ยังไม่มีผู้ใดศึกษามาก่อน ดังนั้นการศึกษาวิทยาของเพรียงหัวหอมชนิดนี้จึงมีความจำเป็นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อไป ประกอบกับในขณะนี้แหล่งผลิตสารยังต้องมาจากแหล่งธรรมชาติอย่างเดียวซึ่งคงจะไม่พอเพียงกับความต้องการที่มากถึงปีละหลายร้อยตัน ฉะนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะเริ่มศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเพรียงหัวหอม เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาเป็นพื้นฐานเพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยง *E. thurstoni* ต่อไป

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชีววิทยาของเพรียงหัวหอมทะเลชนิด *Ecteinascidia thurstoni*
2. เพื่อศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

3. ระเบียบวิธีวิจัย

1. ศึกษาชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*

การศึกษานี้จะแบ่งเป็น 2 ด้านคือ

- 1.1 ศึกษาวงจรชีวิต / ระยะเวลาในแต่ละช่วงวงจรชีวิตของเพรียงหัวหอม

โดยจะทำการสังเกตและบันทึกรูปร่างลักษณะต่างๆที่เปลี่ยนแปลงไปในช่วงระยะเวลาต่างๆในวงจรชีวิตของเพรียงหัวหอมทุกวันจนกระทั่งเพรียงหัวหอมเติบโตอยู่ในระยะตัวโตเต็มวัย

- 1.2 ศึกษาอาหารที่อยู่ในกระเพาะของเพรียงหัวหอม

การศึกษอาหารที่อยู่ในกระเพาะของเพรียงหัวหอมจะทำให้ทราบว่าอาหารส่วนมากที่เพรียงหัวหอมกรองได้คือชนิดใดบ้าง

2. ศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

การศึกษานี้จะแบ่งเป็น 2 ด้านคือ

- 2.1 ศึกษาศึกษาปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ ความเค็มที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเพรียงหัว

หอม

จะทำการศึกษาเพื่อหาระดับความเค็มที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเพรียงหัวหอม ข้อมูลที่ได้จะนำมาคำนวณหาอัตราการเติบโตของเพรียงหัวหอมในแต่ละความเค็ม และนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบ

2.2 ศึกษาปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเพรียงหัวหอม

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าแสงน้ำที่จะเป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของเพรียงหัวหอม ในการทดลองเพรียงหัวหอมจะถูกทดลองให้รับแสงในเปอร์เซ็นต์ที่ต่างกัน เพื่อหาปริมาณของแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม

4. ผลการทดลอง

พบว่าการพัฒนาของเพรียงหัวหอมจากตัวอ่อนที่ว่ายน้ำอิสระไปสู่ตัวอ่อนที่ลงเกาะใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมง และจากการทดลองเลี้ยงเพรียงหัวหอมในโรงเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกับในธรรมชาติพบว่า เพรียงหัวหอมที่อยู่ในโรงเพาะเลี้ยงจะเติบโตเร็วกว่าในธรรมชาติ และมีวงชีวิตที่สั้นประมาณ 3 อาทิตย์ นอกจากนั้น ยังสามารถพบจำนวนประชากรของเพรียงหัวหอมในบ่อทดลองได้ตลอดทุกเดือนในรอบปี ในขณะที่ประชากรของเพรียงหัวหอมที่พบในธรรมชาติจะพบเฉพาะเดือนมีนาคม กรกฎาคม และพฤศจิกายน ของทุกปี ซึ่งจะเห็นได้ว่า การเลี้ยงในโรงเพาะหรือบ่อทดลองจะทำให้ได้ผลผลิตที่เร็วขึ้นเมื่อเทียบกับในธรรมชาติ ซึ่งการเติบโตที่เร็วนั้นอาจเนื่องมาจากการที่มีปริมาณอาหารที่เพียงพอในบ่อทดลอง ในขณะที่ในธรรมชาตินั้น อาหารของเพรียงหัวหอมซึ่งคือแพลงก์ตอนจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับฤดูกาล

จากการทดลองพบว่าเมื่อเปรียบเทียบความยาวและจำนวนของ zooids ในระดับความเค็มของน้ำทะเลที่ต่างกันและระดับความเข้มแสงที่ต่างกันนั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ที่ระดับความเค็มที่สูงขึ้นกว่าในธรรมชาติ (มากกว่า 32 ppt) นั้น เพรียงหัวหอมจะมีแนวโน้มการเติบโตที่สูงกว่าระดับความเค็มอื่น และ จากการทดลองพบว่า ความเข้มของแสงที่ 25% ของความเข้มแสงธรรมชาติ เพรียงหัวหอมมีแนวโน้มที่จะเติบโตที่สุด ทั้งนี้การทดลองแสดงให้เห็นว่าเพรียงหัวหอมสามารถที่จะเติบโตได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีความผันแปรไปจากธรรมชาติได้ในระดับหนึ่ง เพรียงหัวหอมเป็นสัตว์ที่อยู่ในกลุ่ม fouling organisms ซึ่งสัตว์ในกลุ่มนี้มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมภายนอกได้สูง ซึ่งจากการทดลองพบว่าเพรียงหัวหอมสามารถที่จะดำรงชีวิตอยู่ได้เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของระดับความเค็มของน้ำทะเลและความเข้มแสง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเพรียงหัวหอมชนิดนี้สามารถที่จะนำมาเพาะเลี้ยงได้ง่ายเนื่องจากมีความทนทานที่สูง

โครงการ: ชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* และปัจจัยบางประการ
ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต

เนื้อหางานวิจัย

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันได้มีการผลิตยารักษาโรคมะเร็งขึ้น โดยใช้สารที่สกัดจากเพรียงหัวหอมทะเลชนิด *Ecteinascidia turbinata* เพรียงหัวหอมชนิดนี้สามารถพบได้ในทะเลแคริบเบียนเท่านั้น ในประเทศไทย เพรียงหัวหอมที่พบในสกุลนี้คือ *E. thurstoni* จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าเพรียงหัวหอมของไทยสามารถสร้างสารกลุ่มเอคเตนาสซินที่แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆได้อย่างมีนัยสำคัญในปริมาณที่สูงเหมือนกับชนิด *E. turbinata* ซึ่งคาดการณ์ว่า *E. thurstoni* จะสามารถใช้เป็นแหล่งผลิตยารักษาโรคมะเร็งอีกแหล่งหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามความรู้ทางด้านชีววิทยาของ *E. thurstoni* ยังไม่มีผู้ใดศึกษามาก่อน ดังนั้นการศึกษาวิทยวิทยาของเพรียงหัวหอมชนิดนี้จึงมีความจำเป็นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อไป ประกอบกับในขณะนี้แหล่งผลิตสารดังกล่าวยังต้องมาจากแหล่งธรรมชาติเพียงอย่างเดียว ซึ่งมีแนวโน้มที่จะไม่พอเพียงกับความต้องการที่มีปริมาณปีละหลายร้อยตัน ฉะนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะเริ่มศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาเป็นพื้นฐานเพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยง *E. thurstoni* ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชีววิทยาของเพรียงหัวหอมทะเลชนิด *Ecteinascidia thurstoni*
2. เพื่อศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature Review)

เพรียงหัวหอม (Tunicates หรือ Ascidiaceans หรือ Sea Squirts) เป็นสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดหนึ่ง จัดอยู่ใน Phylum Chordata, Subphylum Tunicata, Class Ascidiaceae สัตว์ประเภทนี้ ในขณะที่เป็น larva สามารถว่ายน้ำได้อย่างมีอิสระ มี notocord และ nerve cord เมื่อโตขึ้นจะเกาะติดอยู่กับที่ มีท่อเปิด 2 ท่อ (siphons) ลำตัวปกคลุมด้วยสาร matrix เรียกว่า tunic ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ proteins และ polysaccharides สัตว์ประเภทนี้กินอาหารโดยการกรองผ่านท่อเปิด สืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ และแบบไม่อาศัยเพศโดยการ budding (Ruppert and Barnes, 1994)

ในปัจจุบันเพรียงหัวหอมทะเลที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ecteinascidia turbinata* ซึ่งจัดอยู่ใน Family Perophoridae สัตว์ชนิดนี้พบทั่วไปในทะเล Caribbean และอ่าว Mexico จากการศึกษาพบว่าเพรียงหัวหอมชนิดนี้ สามารถสร้างสารอัลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างหลักเป็น tris-tetrahydroisoquinoline หรือ bis-

tetrahydroisoquinoline เรียกสารอัลคาลอยด์กลุ่มนี้ว่า ecteinascidins (ET) (Wright *et al.*, 1990) สารในกลุ่มนี้ทุกชนิดมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งอย่างแรง ตัวอย่างได้แก่ ET 729, ET 743, ET 722, ET 736 โดยเฉพาะสาร ecteinascidin 743 (ET 743) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่มีมากที่สุดในเพรียงหัวหอมชนิดนี้ และสามารถแสดงฤทธิ์ความเป็นพิษสูงต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ โดยเฉพาะกับเซลล์จาก colon cancer, melanoma และ renal cancer (Rinehart *et al.*, 1990; Wright *et al.*, 1990) ในปัจจุบันสาร ET 743 ได้ผ่านการทดลองทางคลินิกแล้วและได้นำมาพัฒนาเป็นยาชนิดใหม่ในยุโรป และสหรัฐอเมริกา เพื่อใช้บำบัดมะเร็งชนิดต่างๆ ได้แก่ breast, ovarian, prostate, bladder, melanoma, renal, colon, gastric, pancreas, hepatoma, non-small cell lung, sarcomas, head และ neck cancers (Rinehart, 2000) ยาชนิดนี้ได้ผลิตออกมาเมื่อต้นปี 2546 ภายใต้ชื่อว่า Yondelis

ในประเทศไทยเพรียงหัวหอมที่พบในสกุลนี้คือ *Ecteinascidia thurstoni* เพรียงหัวหอมชนิดนี้อยู่เป็นกลุ่ม colony ส่วนมากมักพบในระดับน้ำขึ้น น้ำลง จนถึงระดับความลึก 3-5 เมตร ลำตัวมีลักษณะคล้ายกับ *E. turbinata* แต่มีขนาดเล็กกว่าหนึ่งเท่าตัว สาร tunic ที่คลุมลำตัวใสไม่มีสี บริเวณขอบของท่อเปิด siphons ทั้งสองมีสีเหลืองจางจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสัตว์ชนิดนี้สามารถสร้างสารกลุ่มเอคเตนาสซินที่แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ได้อย่างมีนัยสำคัญในปริมาณที่สูงเหมือนกับชนิด *E. turbinata* (Suwanborirux *et al.*, 2002)

จากการวิจัยพบว่าสามารถแยก สาร ET 770 และ ET 786 จาก *E. thurstoni* ได้ในปริมาณสูง และยัง สามารถเปลี่ยนสาร ET 770 เป็นสาร ET 743 ได้ในปริมาณที่สูงถึง 96 % โดยการทำปฏิกิริยากับ silver nitrate สาร ET 770 และ ET 786 ทั้งสองชนิดนี้แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิด breast, lung, colorectal และ nasopharynx cancers ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Suwanborirux *et al.*, 2002) โดยเฉพาะสาร ET 786 แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง lung cancer NCI-H460 ได้ดีมากกว่าเซลล์มะเร็งชนิดอื่น ซึ่งได้ทำการจดสิทธิบัตรวิธีการผลิตสาร ET 786 ที่ประเทศญี่ปุ่น และประเทศไทย

จากการศึกษาของ Suwanborirux *et al.*, 2002 ได้คาดการณ์ว่า *E. thurstoni* จะสามารถใช้เป็นแหล่งผลิตยารักษามะเร็งได้อีกแหล่งหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามความรู้ทางด้านชีววิทยาของ *E. thurstoni* ยังไม่มีผู้ใดศึกษามาก่อน ดังนั้นการศึกษาชีววิทยาของเพรียงหัวหอมชนิดนี้จึงมีความจำเป็นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อไปจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าการแพร่กระจายของเพรียงหัวหอมชนิดดังกล่าวพบที่ทะเลแถบจังหวัดภูเก็ตเท่านั้น ดังนั้นสภาพแวดล้อมและปัจจัยบางประการน่าจะมีผลต่อการเติบโตและการรอดชีวิตของเพรียงหัวหอม ฉะนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะเริ่มศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเติบโต และการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาเป็นพื้นฐานเพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยง *E. thurstoni* ต่อไป

ขอบเขตของการวิจัย

ขอบเขตของการวิจัยคือ

1. เพื่อศึกษาชีววิทยาของเพรียงหัวหอมทะเลชนิด *Ecteinascidia thurstoni* โดยเน้นถึงวงจรชีวิตของเพรียงหัวหอมในแต่ละระยะของการเปลี่ยนแปลง

2. เพื่อศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni* ปัจจัยดังกล่าว ได้แก่ ความเค็ม และแสง

ระเบียบวิธีวิจัย

ทำการศึกษาด้านชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* และศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

1. ศึกษาชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*

การศึกษาจะแบ่งเป็น 2 ด้านคือ

1.1 ศึกษาวงจรชีวิต / ระยะเวลาในแต่ละช่วงวงจรชีวิตของเพรียงหัวหอม

จากการศึกษาเบื้องต้นในภาคสนามพบว่า วงจรชีวิตของเพรียงหัวหอมประมาณ 3 เดือน ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเพรียงหัวหอมในระยะต่างๆในวงจรชีวิต โดยทำการเก็บเพรียงหัวหอมจากทะเลบริเวณจังหวัดภูเก็ต ที่ระดับความลึกประมาณ 1-5 เมตร โดยการดำน้ำแบบ SCUBA แล้วนำกลับมาที่บ่อพักพื้นที่สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นทำให้เพรียงหัวหอมอยู่ในภาวะเครียดโดยการเพิ่มอุณหภูมิของน้ำในบ่อให้สูงขึ้นประมาณ 3 องศา เพื่อให้เพรียงหัวหอมปล่อยตัวอ่อนออกมาที่มวลน้ำ หลังจากนั้นบันทึกลักษณะและการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อน ระยะเวลาของแต่ละช่วงวงจรชีวิตของเพรียงหัวหอมตั้งแต่ ตัวอ่อน วัยรุ่น และตัวโตเต็มวัย โดยทำการสังเกตและบันทึกทุกชั่วโมง หรือช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลง และทำการถ่ายรูปในแต่ละระยะ

1.2 ศึกษาอาหารที่อยู่ในกระเพาะของเพรียงหัวหอม

การศึกษอาหารที่อยู่ในกระเพาะของเพรียงหัวหอมจะทำให้ทราบว่าอาหารส่วนมากที่เพรียงหัวหอมกรองได้คือชนิดใดบ้าง ตัวเต็มวัยของเพรียงหัวหอมถูกเก็บอย่างสุ่มมาจากทะเลบริเวณเกาะภูเก็ต 50 โคโลนี แต่ละโคโลนี นำมาผ่าเพื่อศึกษาถึงชนิดของสารอาหารที่พบได้ในกระเพาะของเพรียงหัวหอม และเปรียบเทียบชนิดที่พบในทะเล

2. ศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า ในการเลี้ยงเพรียงหัวหอมที่บ่อทดลอง อาหารที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเพรียงหัวหอมคือ *Chaetoceros gracilllis* ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองในขั้นต่อไปเพื่อหาปัจจัยทางด้านกายภาพที่อาจมีผลต่อการเติบโตของเพรียงหัวหอม โดยการศึกษาจะแบ่งเป็น 2 ด้านคือ

2.1 ศึกษาปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ ความเค็ม ที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเพรียงหัวหอม

นำโคโลนีเพรียงหัวหอมจำนวน 25 โคโลนี ที่เก็บได้ที่จังหวัดภูเก็ตมามีติดกับแผ่นลงเกาะขนาด 15 x 15 เซนติเมตร แล้วนำไปแขวนในถังเลี้ยงที่สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา โดยในแต่ละถังมีความเค็มแตกต่างกันคือ 38, 35, 32, 29 และ 26 ppt ตามลำดับ แต่ละชุดทดลองทำ 5 ซ้ำ ให้แสงตามธรรมชาติ อาหารที่ให้คือแพลงก์ตอนพืช *Chaetoceros gracilllis* ซึ่งจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า *Chaetoceros gracilllis* ทำให้เพรียงหัวหอมเติบโตได้ดี โดยให้อาหารวันละ 1 ครั้งในปริมาณที่มากเกินไป พร้อมทั้งเปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนสัปดาห์ละครั้ง ทุกๆ 1 อาทิตย์ขนาดของ zooid ของเพรียงหัวหอมแต่ละ โคโลนี จะถูกวัด และจำนวนของเพรียงหัวหอมเกิดจากการ

แตกหน่อจะถูกนับเป็นระยะเวลาทั้งหมด 2 รอบวงจรชีวิตของเพรียงหัวหอม เพื่อคำนวณหาอัตราการเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอมในความเค็มแต่ละระดับและนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบ

2.2 ศึกษาปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ แสง ที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเพรียงหัวหอม

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าแสงเป็นปัจจัยที่อาจมีความสำคัญในการควบคุมการเติบโตของเพรียงหัวหอม ในการทดลอง โคโลนีของเพรียงหัวหอมจะถูกเก็บมาจากทะเลบริเวณจังหวัดภูเก็ต ที่ระดับความลึกประมาณ 1-5 เมตร โดย การดำน้ำแบบ SCUBA แล้วนำกลับมาที่บ่อพักพื้นสถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลาเป็นเวลา 2 วันก่อนเริ่มการทดลอง ในการทดลอง นำโคโลนีเพรียงหัวหอมจำนวน 25 โคโลนี มามัดติดกับแผ่นลงเกาะขนาด 15 x 15 เซนติเมตร แล้วนำไปแขวนในถังเลี้ยง โดยอุณหภูมิและความเค็มจะอยู่ที่ในระดับที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติคือ 28 °C และ 32 ppt ตามลำดับ ส่วนแสงจะเป็นปัจจัยตัวแปรโดยจะทำการทดลองให้แสงกับเพรียงหัวหอมในเปอร์เซ็นต์ที่ต่าง ๆ กันคือ

เปอร์เซ็นต์การรับแสงของเพรียงหัวหอม 100% 75% 50% 25% และ 0% ของแสงในโรงเพาะเลี้ยงตามลำดับ

ในแต่ละชุดของการทดลองมีการทำ 5 ซ้ำ โดยมีการวัดขนาดของเพรียงหัวหอมและนับจำนวนของเพรียงหัวหอมที่เกิดจากการแตกหน่อทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 2 รอบวงจรชีวิตของเพรียงหัวหอม ข้อมูลที่ได้นำมาเปรียบเทียบเพื่อหาปริมาณของแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม

ผลการวิจัย

1. ศึกษาชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*

1.1 ศึกษาวงจรชีวิต / ระยะเวลาในแต่ละช่วงวงจรชีวิตของเพรียงหัวหอม

ผลการศึกษาพบว่า วงจรชีวิตของประชากร *E. thurstoni* ตามธรรมชาติที่พบในจังหวัดภูเก็ต มีวงชีวิต 60 วัน นับจากการเป็นตัวอ่อน (juvenile) จนถึงตัวเต็มวัย (adult) ทั้งนี้ ในรอบปี จะพบ *E. thurstoni* เป็นจำนวนมากในเดือนมีนาคม กรกฎาคม และพฤศจิกายน ขณะที่ช่วงเวลาอื่นจะพบจำนวนประชากรน้อยมากจนถึงไม่ปรากฏให้เห็น นอกจากนั้น จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า เมื่อสภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลง โดยทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว มีผลให้โคโลนีของ *E. thurstoni* ที่สมบูรณ์เพศที่รวบรวมจากธรรมชาติจะทำการปล่อยตัวอ่อนที่ว่ายน้ำอิสระ (tadpole larva) ที่มีสี่ลัม ซึ่งประกอบด้วยอวัยวะรับสัมผัสที่เกี่ยวกับแรงโน้มถ่วง (gravity sensor หรือ otolith) และอวัยวะรับสัมผัสที่เกี่ยวกับแสง (photo sensor หรือ photolith) ในระยะดังกล่าว ตัวอ่อนไม่มีการแลกเปลี่ยนของเหลวสู่ภายนอก จากนั้น ภายในเวลา 12 ชั่วโมง ตัวอ่อนดังกล่าวจะลงเกาะบนพื้นผิวแข็งโดยอาศัย attachment process ที่อยู่บริเวณปลายสุดของส่วนหัว ซึ่งมีจำนวน 3 อัน เมื่อการลงเกาะสำเร็จ ส่วนหางที่ใช้ในการว่ายน้ำจะสลายตัวอย่างรวดเร็ว และเริ่มพัฒนา stolon เพื่อสร้างโคโลนีโดยอาศัยการแตกหน่อ (budding) และพัฒนาอวัยวะภายใน ได้แก่ หัวใจ brachial basket รวมทั้งระบบทางเดินอาหารที่ประกอบด้วย ท่อทางเดินอาหาร (esophagus) กระเพาะอาหาร (stomach) และลำไส้ (intestine) ซึ่งอวัยวะทั้งหมดจะพัฒนาโดยสมบูรณ์ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเพรียงหัวหอมระยะวัยรุ่นจึงเริ่มกรอกกินอาหารจากมวลน้ำต่อไป ทั้งนี้ โคโลนีและขนาดของโคโลนี รวมถึงลักษณะวงจรชีวิตของ *E. thurstoni* แสดงในรูปที่ 1, 2, 3 และ 4

จากการนำ *E. thurstoni* จากธรรมชาติในจังหวัดภูเก็ตมาทำการเลี้ยงในบ่อทดลองระบบปิด ณ สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่อนคีลา จังหวัดชลบุรี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยให้อาหารแพลงก์ตอนพืช *Chaetoceros gracillis* พบว่า วงจรชีวิตของ *E. thurstoni* ในบ่อทดลองมีระยะเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ ตั้งแต่การเป็นตัวอ่อนถึงตัวเต็มวัยและตายไปในที่สุด ซึ่งมีระยะเวลาของวงจรชีวิตที่สั้นกว่าการศึกษาในธรรมชาติซึ่งมีวงชีวิตประมาณ 60 วัน นอกจากนั้น ยังสามารถพบจำนวนประชากรของเพรียงหัวหอมในบ่อทดลองได้ตลอดทุกเดือนในรอบปี



รูปที่ 1 โคโลนีของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*



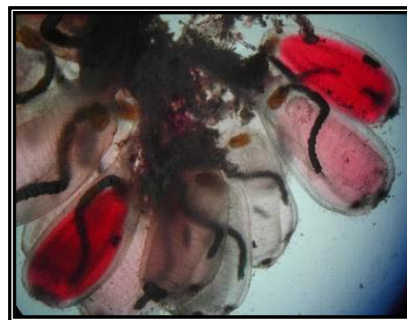
รูปที่ 2 ขนาดของโคโลนีเมื่อเทียบกับมือ



ตัวอ่อนว่ายน้ำน้ำอิสระ (tadpole larva)

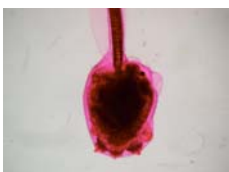


ตัวอ่อน (juvenile)

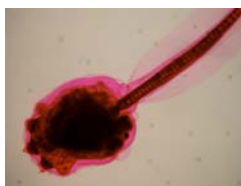


ตัวเต็มวัย (adult)

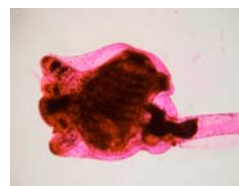
รูปที่ 3 ลักษณะของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* ในแต่ละระยะ



ตัวอ่อนว่ายน้ำน้ำอิสระ



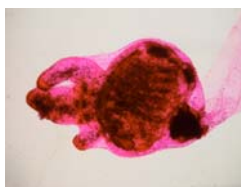
5 นาที่: มีการพัฒนา sucker



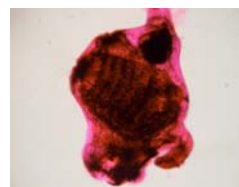
3 ชั่วโมง: ส่วนหัวมีขนาดใหญ่ขึ้น



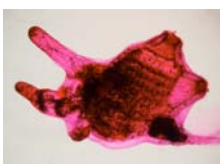
6 ชั่วโมง: อวัยวะภายในเริ่มมีการพัฒนา



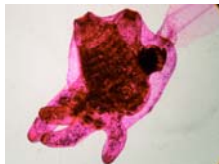
9 ชั่วโมง: stolon สำหรับเกาะที่ส่วนหัวยาวขึ้น



12 ชั่วโมง: เริ่มมีลักษณะเหมือน zooid



21 ชั่วโมง: ท่อน้ำ 2 ท่อพัฒนาเต็มที่



24 ชั่วโมง: อวัยวะภายในพัฒนาสมบูรณ์

รูปที่ 4 การพัฒนาการของตัวอ่อนเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*

1.2 ศึกษาอาหารที่อยู่ในกระเพาะของเพรียงหัวหอม

ในระบบทางเดินอาหารของ *E. thurstoni* พบแพลงก์ตอนขนาดเล็ก โดยส่วนใหญ่เป็นแพลงก์ตอนกลุ่ม Diatoms (รูปที่ 5) ได้แก่ *Navicula*, *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Coscinodiscus*, *Nitzschia*, และ *Thalassiosira* และกลุ่ม *Dinoflagellates* ได้แก่ *Protoperidinium*, *Prorocentrum*, และ *Triceratium*

เมื่อเก็บตัวอย่างน้ำทะเลในธรรมชาติบริเวณที่เพรียงหัวหอมอาศัย พบแพลงก์ตอนคือ *Chaetoceros*, *Coscinodiscus*, *Rhizosolenia*, *Nitzschia*, *Thalassiosira*, *Eucampia*, *Odontella*, *Hemiaulus*, *Gyrosigma/Pleurosigma*, *Navicula* (*Amphura*), *Bacteriastrum*, *Protoperidinium*, *Ceratium*, *Bacillaria* และ *Guinardia*

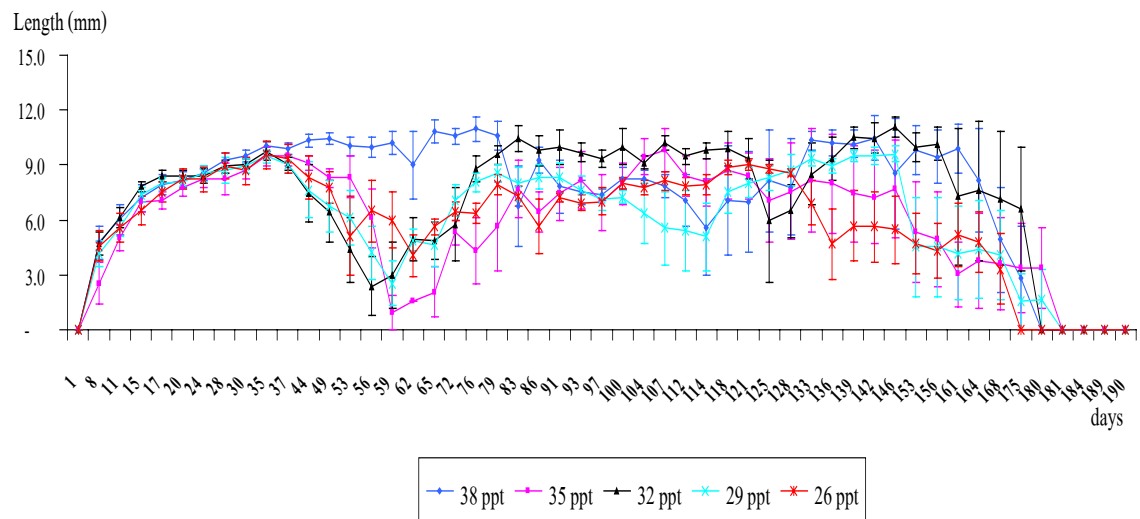


รูปที่ 5 ตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชที่พบในกระเพาะอาหารของเพรียงหัวหอม

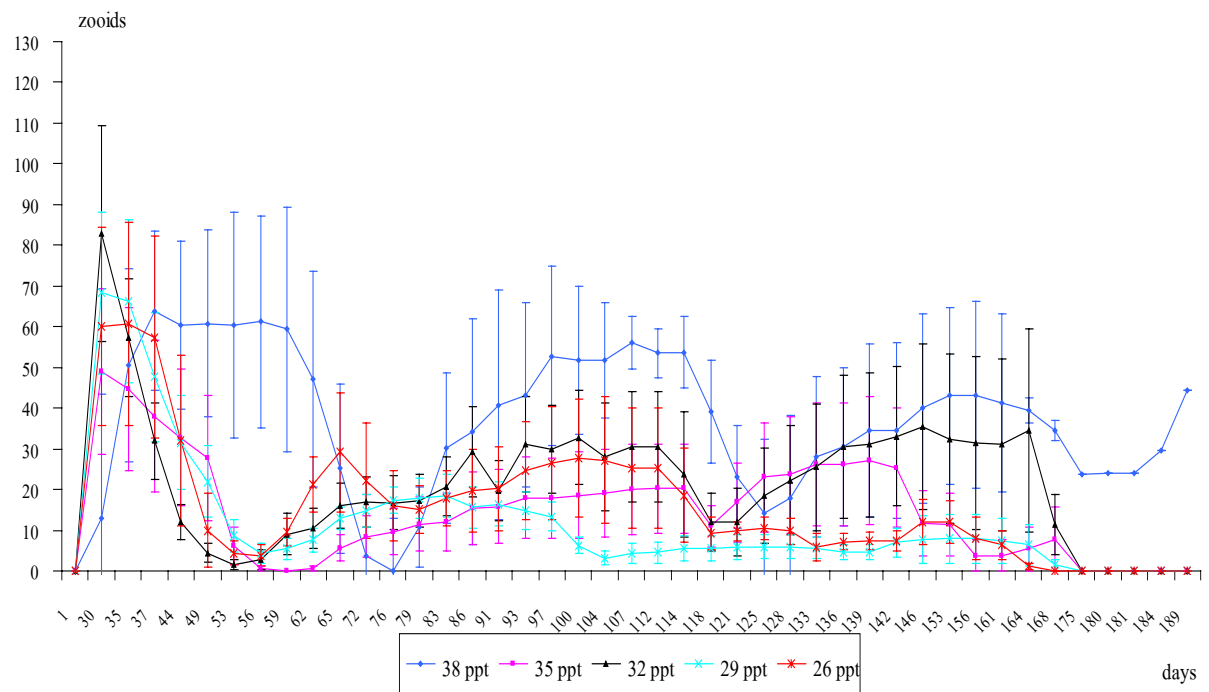
2. ศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

2.1 ศึกษาปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ ความเค็ม ที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเพรียงหัวหอม

จากการทดลองพบว่า ขนาดความยาวของ zooids มีขนาดใหญ่ที่สุดในถังเลี้ยงที่น้ำทะเลมีความเค็ม 38 ppt และ 32 ppt แต่อย่างไรก็ตามขนาดความยาวของ zooids ในระดับความเค็มของน้ำทะเลที่ต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ($p > 0.05$) (รูปที่ 6) ในถังเลี้ยงที่มีความเค็ม 38 ppt พบว่า มีจำนวนของ zooids มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเค็มที่ระดับอื่น แต่อย่างไรก็ตามจำนวนของ zooids ในระดับความเค็มของน้ำทะเลที่ต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ($p > 0.05$) (รูปที่ 7)



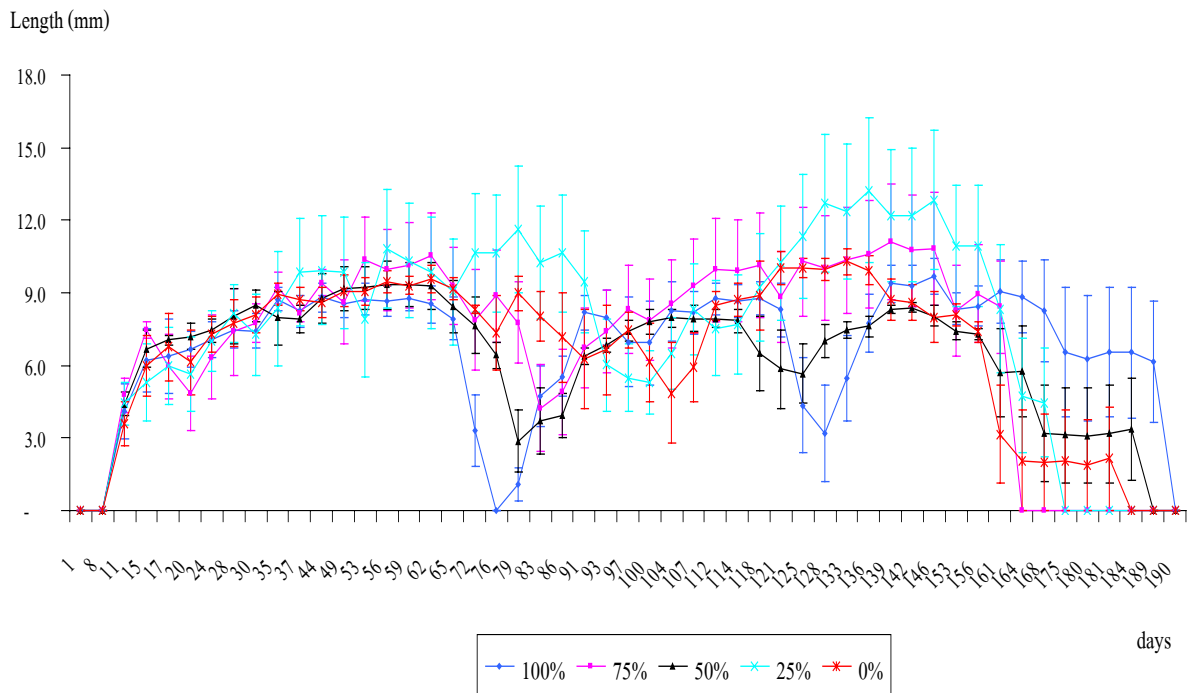
รูปที่ 6 ความยาวของ zooids ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* เมื่อเลี้ยงในระบบเลี้ยงที่มีระดับความเค็มของน้ำทะเลที่ต่างกัน

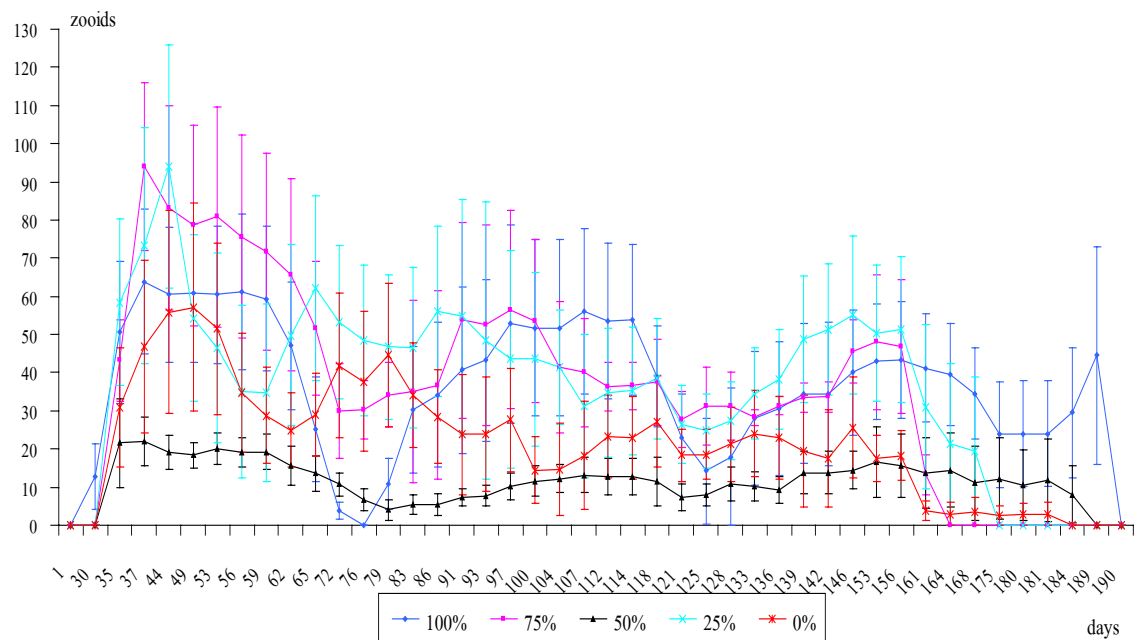


รูปที่ 7 จำนวนของ zooids ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* เมื่อเลี้ยงในระบบเลี้ยงที่มีระดับความเค็มของน้ำทะเลที่ต่างกัน

2.2 ศึกษาปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ แสง ที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเพรียงหัวหอม

จากการทดลองพบว่า ขนาดความยาวของ zooids มีขนาดใหญ่ที่สุดในถังเลี้ยงที่มีความเข้มของแสง 25% ของความเข้มของแสงในธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามขนาดความยาวของ zooids ในระดับความเข้มแสงที่ต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.5$) (รูปที่ 8) ในถังเลี้ยงที่มีความเข้มของแสง 25% ของความเข้มของแสงในธรรมชาติ พบว่า มีจำนวนของ zooids มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเค็มที่ระดับอื่น แต่อย่างไรก็ตามจำนวนของ zooids ในระดับความเข้มแสงที่ต่างกันที่ต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.5$) (รูปที่ 9)





รูปที่ 9 จำนวนของ zooids ของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni* เมื่อเลี้ยงในระบบเลี้ยงที่มีระดับความเข้มของแสงต่างกัน (100%, 75%, 50%, 25%, และ 0% ของความเข้มแสงในธรรมชาติ)

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ศึกษาชีววิทยาของเพรียงหัวหอม *Ecteinascidia thurstoni*

พบว่าการพัฒนาของเพรียงหัวหอมจากตัวอ่อนที่ว่ายน้ำอิสระไปสู่ตัวอ่อนที่ลงเกาะใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมง และจากการทดลองเลี้ยงเพรียงหัวหอมในโรงเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกับในธรรมชาติพบว่า เพรียงหัวหอมที่อยู่ในโรงเพาะเลี้ยงจะเติบโตเร็วกว่าในธรรมชาติ และมีวงชีวิตที่สั้นกว่าประมาณ 1 เดือน นอกจากนั้น ยังสามารถพบจำนวนประชากรของเพรียงหัวหอมในบ่อทดลองได้ตลอดทุกเดือนในรอบปี ในขณะที่ประชากรของเพรียงหัวหอมที่พบในธรรมชาติจะพบเฉพาะเดือนมีนาคม กรกฎาคม และพฤศจิกายน ของทุกปี ซึ่งจะเห็นได้ว่า การเลี้ยงในโรงเพาะหรือบ่อทดลองจะทำให้ได้ผลผลิตที่เร็วขึ้นเมื่อเทียบกับในธรรมชาติ ซึ่งการเติบโตที่เร็วนั้นอาจเนื่องมาจากการที่มีปริมาณอาหารที่เพียงพอในบ่อทดลอง ในขณะที่ในธรรมชาตินั้น อาหารของเพรียงหัวหอมซึ่งคือแพลงก์ตอนจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับฤดูกาล นอกจากนี้จากการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนจากทะเลมาเปรียบเทียบกับแพลงก์ตอนที่พบในกระเพาะอาหารของเพรียงหัวหอม พบว่าแพลงก์ตอนในกระเพาะของเพรียงหัวหอมนั้นเป็นชนิดเดียวกับแพลงก์ตอนที่พบได้ในธรรมชาติ ซึ่งแสดงว่าแพลงก์ตอนเป็นอาหารหลักกลุ่มหนึ่งของเพรียงหัวหอม เนื่องจากเพรียงหัวหอมเป็นสัตว์ประเภทกรองกินอาหาร ดังนั้นเพรียงหัวหอมจะสามารถกรองกินอาหารชนิดใดได้นั้นจึงขึ้นอยู่กับขนาดของอาหารที่สามารถที่จะถูกกรอง แต่ไม่ได้ขึ้นอยู่กับทางเลือกอาหาร

2. ศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพรียงหัวหอม *E. thurstoni*

จากการทดลองพบว่าเมื่อเปรียบเทียบความยาวและจำนวนของ zooids ในระดับความเค็มของน้ำทะเลที่แตกต่างกันและระดับความเข้มแสงที่ต่างกันนั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ที่ระดับความเค็มที่เท่ากับหรือสูงขึ้นกว่าในธรรมชาติ (32 ppt) นั้น เพรียงหัวหอมจะมีแนวโน้มการเติบโตที่สูงกว่าระดับความเค็มอื่น และจากการทดลองพบว่า ความเข้มของแสงที่ 25% ของความเข้มแสงธรรมชาติ เพรียงหัวหอมมีแนวโน้มที่จะเติบโตดีที่สุด ทั้งนี้การทดลองแสดงให้เห็นว่าเพรียงหัวหอมสามารถที่จะเติบโตได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีความผันแปรไปจากธรรมชาติได้ในระดับหนึ่ง เพรียงหัวหอมเป็นสัตว์ที่อยู่ในกลุ่ม fouling organisms ซึ่งสัตว์ในกลุ่มนี้มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมภายนอกได้สูง ซึ่งจากการทดลองพบว่าเพรียงหัวหอมสามารถที่จะดำรงชีวิตอยู่ได้เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของระดับความเค็มของน้ำทะเลและความเข้มแสง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเพรียงหัวหอมชนิดนี้สามารถที่จะถูกนำมาเพาะเลี้ยงได้ง่ายเนื่องจากมีความทนทานที่สูง

เอกสารอ้างอิง

1. Rinehart, K. L. Antitumor compounds from tunicates. 2000. Med. Res. Rev. 20:1-27.
2. Rinehart, K. L., T. G. Holt, N. L. Fregean, J. G. Stroh, P. A. Keifer, F. Sun, L. H. Li, and D. G. Martin. 1990. Ecteinascidins 729, 743, 745, 759A, 759B, and 770: Potent antitumor agents from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. J. Org. Chem. 55:4512-4515.
3. Ruppert, E. E. and R. D. Barnes. 1994. Invertebrate Zoology. 6th Edition. Saunders College Publishing, Florida. 1056pp.
4. Suwanborirux, K., K. Charupant, S. Amnuoypol, S. Pummangura, A. Kubo, and N. Saito. 2002. Exteinascidins 770 and 786 from the Thai tunicate, *Exteinascidia thurstoni*. J. Nat. Prod. 65:935-937.
5. Wright, A. E., D. A. Folreo, G. P. Gunawardana, S. P. Gunasechera, F. K. Koehn, and J. M. McConnel. 1990. Antitumor terahydroisoquinoline alkaloids from the colonial ascidian *Ecteinascidia turbinata*. J. Org. Chem. 55:4508-4512.

ผลที่ได้จากโครงการ

1. ได้รับการตอบรับและจะตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ชื่อ Coral Reefs มี Impact Factor 2.115
Chavanich, S., P. Koeysin, V. Viyakarn, S. Piyatiratitivorakul, P. Menasveta, K. Suwanborirux, and S. Poovachiranon. 2005. A tunicate from a Thai coral reef – a potential source of new anticancer compounds. Coral Reefs. (in press)
2. ได้มีการไปเสนอผลงานในการประชุม Indian Ocean Marine Environmental Conference 14-18 กุมภาพันธ์ 2548 ที่ เมือง Perth ประเทศออสเตรเลีย
Chavanich, S., P. Koeysin, K. Suwanborirux, V. Viyakarn, S. Piyatiratitivorakul, and P. Menasveta. 2005. Preliminary biology study of the Thai tunicate *Ecteinascidia thurstoni* for an aquaculture. Proceeding of the first Indian Ocean Marine Environmental Conference: linking science, engineering, and management. p27.
3. กำลังอยู่ในระหว่างการเตรียมบทความเพื่อนำไปตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ และคาดว่าจะตีพิมพ์ในวารสาร ชื่อ Invertebrate Biology มี Impact Factor 1.00
Chavanich, S., P. Koeysin, K. Suwanborirux, V. Viyakarn, S. Piyatiratitivorakul, and P. Menasveta. 2005. Life cycle of the Thai tunicate *Ecteinascidia thurstoni*. Invertebrate Biology. (In prep.)

ภาคผนวก

1. บทความ (short note) ที่ได้รับการตอบรับและจะได้รับการเผยแพร่ในวารสารระดับนานาชาติ

Chavanich, S., P. Koeysin, V. Viyakarn, S. Piyatiratitivorakul, P. Menasveta, K. Suwanborirux, and S.

Poovachiranon. 2005. A tunicate from a Thai coral reef – a potential source of new anticancer compounds. Coral Reefs. (in press)

A tunicate from a Thai coral reef - a potential source of new anticancer compounds

Received:

Accepted:

Published online:

Tunicates have attracted attention as potential sources of anti-cancer compounds (Wright et al. 1990; Scotto 2002). In Thailand, a colonial tunicate has been found on coral reefs by Suwanborirux et al. (2002). Subsequent identification by Teruaki Nishikawa showed this to be *Ecteinascidia thurstoni* Herdman, 1891 (Fig. 1). A group of alkaloids, the Ecteinascidins (Et), including Et 770 and Et 786, have been isolated with very high yields from *E. thurstoni* pretreated with potassium cyanide. These extracts exhibited potent cytotoxic activity against cancer cells of breast, lung, colorectal, and nasopharyngeal tissues (Suwanborirux et al. 2002).



Fig. 1. The tunicate, *Ecteinascidia thurstoni* (white colony)

This tunicate is now only found in one reef area at 1-3 meter depth in Phuket Province, southern Thailand, on the Andaman Sea coast. The zooid ranges between 0.8-1.2 cm in height. The highest density and abundance of this tunicate is in March, July, and November each year. Analysis of stomach contents of the tunicate revealed the presence of the diatoms *Navicula*, *Nitzschia* and *Thalassiosira*, and dinoflagellates *Protoperidinium*, *Prorocentrum* and *Triceratium*. Preliminary results from field observations

show that the main factor controlling the growth and population density of this tunicate is light, with populations of *E. thurstoni* only occurring where conditions of low light intensity prevail. The life span of *E. thurstoni* is approximately 60 days. Laboratory observations showed that within 12 hours of release, 'tadpole like' larvae attach to surfaces by three anterior suckers. The 'tadpoles' then develop and metamorphose into juvenile filter feeders within 24 hours.

Acknowledgements This work was funded by the Thailand Research Fund (MRG4680051) to SC and TRF/BIOTECH special program for Biodiversity Research and Training Grant (BRT T_347008) to PK.

References

- Scotto KW (2002) ET-743: a novel marine-derived anti-tumor agent. *Anti-Cancer Drugs* 13:3-6
Suwanborirux K, Charupant K, Amnuoyopol S, Pumangura S, Kubo A, Saito N (2002) Ecteinascidins 770 and 786 from the Thai tunicate *Ecteinascidia thurstoni*. *J Nat Prod* 65:935-937
Wright AE, Forleo DA, Gunawardana GP, Gunasekera SP, Koehn FE, McConnell OJ (1990) Antitumor tetrahydroisoquinoline alkaloids from the colonial ascidian *Ecteinascidia turbinata*. *J Org Chem* 55:4508-4512

S. Chavanich*, P. Koeysin, V. Viyakarn, S. Piyatiratitivorakul, and P. Menasveta
Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand
E-mail: csuchana@sc.chula.ac.th
Tel: +662-218-5394
Fax: +662-255-0780

K. Suwanborirux,
Bioactive Marine Natural Products Research Unit, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

S. Poovachiranon
Phuket Marine Biological Center, Phuket 83000, Thailand

Reef sites

2. บทความวิชาการไปเสนอผลงานในการประชุม Indian Ocean Marine Environmental Conference 14-18 กุมภาพันธ์ 2548 ที่ เมือง Perth ประเทศออสเตรเลีย

Chavanich, S., P. Koeysin, K. Suwanborirux, V. Viyakarn, S. Piyatiratitivorakul, and P. Menasveta. 2005.

Preliminary biology study of the Thai tunicate *Ecteinascidia thurstoni* for an aquaculture. Proceeding of the first Indian Ocean Marine Environmental Conference: linking science, engineering, and management. p27.