

ชื่อวิทยาการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.
(DEMOSPONGIAE: ASTROPHORIDA: CALTHROPELLIDAE)



นายชาติรี ฤทธิทอง

สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-17-6236-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

REPRODUCTIVE BIOLOGY OF *Pachastrissa* sp.
(DEMOSPONGIAE: ASTROPHORIDA: CALTHROPELLIDAE)



Mr. Chatree Ritthong

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 2004

ISBN 974-17-6236-4

| | |
|----------------------|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. (DEMOSPONGIAE: ASTROPHORIDA: CALTHROPELLIDAE) |
| โดย | นายชาติตรี ฤทธิทอง |
| สาขาวิชา | วิทยาศาสตร์ทางทะเล |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | รองศาสตราจารย์ ณิชูสรัตน์ ปภาวสิทธิ์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม | รองศาสตราจารย์ ดร.เผด็จศักดิ์ จารยะพันธุ์ |

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมณะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิตินรมยง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ณิชูสรัตน์ ปภาวสิทธิ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. เผด็จศักดิ์ จารยะพันธุ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรวรรณ สัตยาลัย)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธรรมศักดิ์ ยี่มิน)

ชาติรี ฤทธิทอง : ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (DEMOSPONGIAE: ASTROPHORIDA: CALTHROPELLIDAE) (REPRODUCTIVE BIOLOGY OF

Pachastrissa sp. (DEMOSPONGIAE: ASTROPHORIDA: CALTHROPELLIDAE)

อ. ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ณัฐวรรตน์ ปภาวสิทธิ์, อ. ที่ปรึกษาร่วม: รองศาสตราจารย์ ดร.เมตติศักดิ์ จารยะพันธุ์, [119] หน้า. ISBN 974-17-6236-4.

ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (Demospongiae: Astrophorida: Calthropellidae) เป็นฟองน้ำกลุ่มหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาสกัดสารเคมีเพื่อใช้ในการศึกษาทางเภสัชวิทยา งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการกระจายในธรรมชาติของฟองน้ำชนิดนี้บริเวณกองหินสัมบันย้อย ซึ่งอยู่ด้านทิศเหนือของเกาะสีชัง ทำการศึกษารูปแบบชนิดและช่วงเวลาของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ โดยการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อและวัดอัตราการเติบโตในภาคสนามและทดลองในห้องปฏิบัติการ ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2546 ถึง มิถุนายน 2547 นอกจากนี้ได้ทดลองเลี้ยงฟองน้ำในบ่อเลี้ยงในระบบที่มีการหมุนเวียนน้ำผ่านตลอด ผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่าฟองน้ำชนิดนี้มีรูปแบบการกระจายตัวเป็นแบบกลุ่ม และพบกระจายตัวน้อยมากในธรรมชาติ ประมาณ 1.2 ตารางเซนติเมตรต่อตารางเมตร เมื่อศึกษาการเติบโตตามธรรมชาติของฟองน้ำพบว่ามีหลายปัจจัยที่กระทำร่วมกันซึ่งส่งผลให้มีการเพิ่มและลดพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ เช่น ปัจจัยทางกายภาพคือปริมาณความเค็ม อุณหภูมิ และอาหารจำพวก แพลงก์ตอนพืช นอกจากนี้ปัจจัยทางชีวภาพคือ ช่วงระยะเวลาการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ การแก่งแย่งพื้นที่การลงเกาะและการถูกล่าโดยผู้ล่า จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปริมาณความเค็ม อุณหภูมิและปริมาณแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอมและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุม

การศึกษารูปแบบชนิดและช่วงเวลาในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำพบว่าฟองน้ำชนิดนี้มีช่วงการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ปีละครั้งมีรูปแบบการสืบพันธุ์เป็นกะเทยคือมีเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองเพศอยู่ในโคโลนีเดียวกัน โดยมีการสร้างไข่ก่อนสเปิร์มและออกลูกเป็นตัว มีการสร้างไข่ในเดือนมกราคม ถึงเดือนกรกฎาคม มีการสร้างสเปิร์มในเดือนเมษายน ถึงเดือนกรกฎาคม คาดว่าจะพบเอ็มบริโอได้ในเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม และคาดว่าจะพบตัวอ่อนในมวลน้ำได้ในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม จากการศึกษาพบเอ็มบริโอได้ในเดือนเมษายน ถึงเดือนมิถุนายน และไม่ได้ศึกษาตัวอ่อนในมวลน้ำ

ผลการทดลองเลี้ยงฟองน้ำในห้องปฏิบัติการพบว่า การทดลองเลี้ยงฟองน้ำในบ่อเลี้ยงเริ่มตั้งแต่มกราคม-ธันวาคม 2546 ทดลองเลี้ยง 32 โคโลนี แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่น้ำหนักมากกว่า 80 กรัม และกลุ่มที่น้ำหนักน้อยกว่า 80 กรัมพบว่าช่วง 6 เดือนแรกกลุ่มที่น้ำหนักมากกว่า 80 กรัมมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มที่มีน้ำหนักน้อยกว่า 80 กรัม มีการทดลองซ้ำเพื่อศึกษาการเติบโตของฟองน้ำโดยน้ำหนักฟองน้ำเริ่มต้นแต่ละโคโลนีมากกว่า 100 กรัม เปรียบเทียบกัน 3 บ่อ คือบ่อ C (บ่อรวมน้ำจากระบบเลี้ยง) บ่อ D (บ่อในระบบเลี้ยง) และ บ่อ E (บ่อเก็บน้ำดิบก่อนเข้าระบบกรอง) บ่อละ 6 โคโลนี อัตราการเติบโตสุทธิในบ่อในระบบเลี้ยงดีที่สุด แต่ภาวะการเลี้ยงในการทดลองครั้งนี้ยังไม่เหมาะสมกับการเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เนื่องจากการไหลเวียนของน้ำในบ่อเลี้ยงน้อยมีการสะสมของแอมโมเนียและปริมาณอาหารไม่เพียงพอ

| | |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| ภาควิชา....วิทยาศาสตร์ทางทะเล..... | ลายมือชื่อนิสิต |
| สาขาวิชา...วิทยาศาสตร์ทางทะเล..... | ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา |
| ปีการศึกษา.....2547..... | ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม |

4472250923 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEY WORD: PACHASTRISSA SP./ CALTHROPELLIDAE/ SPONGE / REPRODUCTIVE BIOLOGY

CHATREE RITTHONG: REPRODUCTIVE BIOLOGY OF PACHASTRISSA SP.

(DEMOSPONGIAE: ASTROPHORIDA: CALTHROPELLIDAE) THESIS ADVISOR:

ASSOC.PROF. NITTHARATANA PAPHAVASIT, THESIS COADVISOR:

ASSOC.PROF.PADERMSAK JARAYABHAND Ph.D, [119] pp. ISBN 974-17-6236-4.

Sponge, *Pachastrissa* sp. (Demospongiae: Astrophorida: Calthropellidae) are known for their value in medicine. Distribution and growth of this sponge was monitored in Kong Hin Sam Pan Yuen, Sichang Island during June 2003 to June 2004. Reproduction biology was also observed both in field and histological study in the laboratory, sponge culture experiments were also conducted in the open system. The result on the natural distribution of this sponge revealed that it was a rare species, growing in clump with low percent coverage of 1.2 cm²per m². Several environmental factors were responsible for the sponge growth in nature as revealed by the changes in percent coverage. Salinity, temperature and phytoplankton were the major parameters. Biological factors in particular the reproductive phases in sponge, competition and predation were also important. From this study, salinity, temperature, phytoplankton abundances (diatoms and bluegreen algae) were significantly correlated with the percent coverage in sponge.

The reproduction pattern and time of spawning in sponge, *Pachatrissa* sp. reveal that the sponge was protogynous hermaphroditism. Gametogenesis occurred once a year with the oogenesis followed by the spermatogenesis. This species was also viviparous. The oogenesis cycle started in January to July while the spermatogenesis occurred in April to July. Embryos were expected to be July. Larvae should be found in the water column from May to July. However in the study, the embryos were found during April to June. The larvae were not studied.

Sponge culture experiments were conducted from January-December 2003 of the 32 sponge colonies, they were divided into those with biomass less than 80 grams and those with biomass more than 80 grams. Those with large biomass grew faster within 6 months. Another culture experiments conducted in 3 different conditions, namely tank C receiving water from the close system, tank D receiving water from the culture system and tank E as reservoir tank drawing in seawater from surrounding area. The net growth rate in the tank D, in the culture system, was highest. However the culture conditions in these experiments were not appropriated. The decrease growth rates were due to the low flow rate, the accumulation of wastes and the food shortage.

| | |
|--|-----------------------------|
| Department.....Marine Science..... | Student's signature..... |
| Field of study.....Marine Science..... | Advisor's signature..... |
| Academic year.....2004..... | Co-advisor's signature..... |

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้ด้วยดีด้วยความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ญิฐฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.เผด็จศักดิ์ จารยะพันธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้อำนวยคำแนะนำด้านต่าง ๆ ทั้งด้านวิชาการ และแนวทางในการทำวิจัย ตลอดจนหาแหล่งเงินทุน รวมทั้งเอกสารวิชาการต่าง ๆ ที่ใช้ประกอบในการทำงานวิจัย ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จเป็นอย่างดี ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณรัตน์ สัตยาลัย ที่กรุณาอนุญาตให้ใช้ห้องปฏิบัติการชีววิทยาการเจริญ ช่วยแนะนำเกี่ยวกับการศึกษาชีววิทยาการเจริญ โดยเฉพาะที่ใช้ศึกษาเซลล์ของฟองน้ำและเทคนิคการย้อมสีเซลล์ฟองน้ำ อาจารย์ได้กรุณาเป็นกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์และช่วยตรวจแก้ไขและแนะนำในขณะที่ยื่นวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิตธิธรรมยง ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการสอบและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธรรมศักดิ์ ยี่มิน กรรมการทั้งสองท่านได้ให้คำแนะนำและช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณอาจารย์ ดร.คณิต สุวรรณบริรักษ์ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับชนิดของฟองน้ำที่ศึกษา Dr. John N.A. Hooper ที่ได้จำแนกฟองน้ำชนิดนี้ อาจารย์ศักดิ์อนันต์ ปลาทอง ที่ให้คำแนะนำและเอกสารเกี่ยวกับฟองน้ำ อาจารย์อุดมศักดิ์ ตรีมาศ คุณคัมภีร์ ผาติเสนะ คุณนิพัทธ์ สัมกลีบ คุณชัยเทพ วิริยะนิจกรณ ที่ช่วยดำเนินเก็บตัวอย่าง คุณสมภพ รุ่งสุภา คุณสุรพล ชุณหภัณฑิต คุณสมบัติ อินทร์คง คุณชลธยา ทรงรูป คุณอานุภาพ พานิชผล นักวิจัยและเจ้าหน้าที่ประจำสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึคนิสิต เกาะสีชัง ทุกท่านที่ช่วยเหลือและให้ความสะดวกในการทำวิจัยรวมทั้งคุณลุงสุวิน สังข์ทอง คนขับเรือ คุณอัจฉริยา ไชยรัตน์ ที่ช่วยตัดเนื้อเยื่อฟองน้ำ คุณสุทธิกาญจน์ สุทธิ ที่ช่วยนับเซลล์ฟองน้ำ คุณปิยะรัตน์ เข้าซี่ ที่ช่วยดูตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช คุณจริยา ลีติเวศน์ ที่ช่วยแนะนำและแก้ไขรูปเล่ม ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัชฌาภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และอาจารย์อชิฌิกา ศิวายพรหมณ์ ตลอดจนพี่ ๆ น้อง ๆ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ที่ช่วยให้คำแนะนำในการปรับปรุงการเขียนและการนำเสนอวิทยานิพนธ์ ฉบับนี้

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และ สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่อนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์สำหรับการศึกษาและที่พักสำหรับการทำวิจัยที่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี และขอขอบคุณกรมอุตุฯ สำหรับข้อมูลปริมาณน้ำฝน

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT T_146012 การวิจัยส่วนหนึ่งได้รับการสนับสนุนจากทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2546 ด้วย

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้กำลังใจและช่วยเหลือสนับสนุนทุกด้านจนวิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

| | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ฉ |
| สารบัญ..... | ช |
| สารบัญตาราง..... | ซ |
| สารบัญรูป..... | ฅ |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ..... | 1 |
| 2 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการศึกษา..... | 24 |
| 3 ผลการศึกษา..... | 39 |
| 4 วิจัยรณัผลการศึกษา..... | 78 |
| 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ..... | 92 |
| รายการอ้างอิง..... | 97 |
| ภาคผนวก..... | 112 |
| ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... | 119 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

| | | หน้า |
|-------------|---|------|
| ตารางที่ 1 | รูปแบบการสืบพันธุ์ของฟองน้ำบางชนิดใน Class Demospongiae..... | 7 |
| ตารางที่ 2 | ระยะการเจริญในรอบปีของฟองน้ำ <i>Petrosia</i> sp. และฟองน้ำ <i>Halisarca dujadini</i> | 9 |
| ตารางที่ 3 | สารเคมีที่สกัดได้จากฟองน้ำบางชนิด..... | 18 |
| ตารางที่ 4 | พื้นที่ปกคลุมและอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมเฉลี่ยของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มป็นยี่อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 44 |
| ตารางที่ 5 | ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มป็นยี่อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 51 |
| ตารางที่ 6 | จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. สุ่มแยกส่วนของเนื้อเยื่อจากบริเวณกองหินส้มป็นยี่อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 62 |
| ตารางที่ 7 | จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มป็นยี่อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 65 |
| ตารางที่ 8 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachatrissa</i> sp. แต่ละชนิด บริเวณกองหินส้มป็นยี่อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 67 |
| ตารางที่ 9 | ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachatrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มป็นยี่อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 68 |
| ตารางที่ 10 | ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำ <i>Pachatrissa</i> sp. กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมในบ่อเลี้ยง ที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย..... | 77 |
| ตารางที่ 11 | อัตราการรอดของฟองน้ำบางชนิด..... | 90 |

สารบัญญรูป

| | | หน้า |
|-----------|---|------|
| รูปที่ 1 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มปั้นย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี..... | 4 |
| รูปที่ 2 | ชนิดของ spicule ที่พบในฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. | 5 |
| รูปที่ 3 | การสร้าง gemmules (Gemmulogenesis) ในฟองน้ำ Order Haplosclerida... | 6 |
| รูปที่ 4 | สเปิร์ม (sperms) ของฟองน้ำบางชนิด..... | 10 |
| รูปที่ 5 | การเจริญของไข่ (oocyte) ในฟองน้ำบางชนิด..... | 11 |
| รูปที่ 6 | การเจริญของเอ็มบริโอ (embryo) ในฟองน้ำบางชนิด..... | 13 |
| รูปที่ 7 | ตัวอ่อน (larva) ในฟองน้ำบางชนิด..... | 14 |
| รูปที่ 8 | การเปลี่ยนแปลงรูปร่างหลังการลงเกาะในฟองน้ำ Order Haplosclerida..... | 15 |
| รูปที่ 9 | การเลี้ยงฟองน้ำในระบบปิด..... | 20 |
| รูปที่ 10 | การเลี้ยงฟองน้ำด้วยวิธี rope และ rope array..... | 21 |
| รูปที่ 11 | การเลี้ยงฟองน้ำด้วยวิธี mesh และ mesh array..... | 22 |
| รูปที่ 12 | การเลี้ยงฟองน้ำแบบผูกแพ..... | 23 |
| รูปที่ 13 | กองหินส้มปั้นย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี..... | 24 |
| รูปที่ 14 | กองหินส้มปั้นย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี..... | 25 |
| รูปที่ 15 | การหาพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในธรรมชาติ โดยใช้ตารางสี่เหลี่ยม quadrate ขนาด 50 x 50 ซม..... | 26 |
| รูปที่ 16 | อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ ความเค็ม และปริมาณออกซิเจนละลาย..... | 26 |
| รูปที่ 17 | ตำแหน่งเนื้อเยื่อฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ที่นำมาศึกษาด้วยวิธีตัด paraffin section และ วิธี cytospin | 27 |
| รูปที่ 18 | ขั้นตอนการศึกษาเนื้อเยื่อฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ด้วยวิธีตัด paraffin section..... | 30 |
| รูปที่ 19 | ระบบการทำงานของเครื่อง cytospin..... | 32 |
| รูปที่ 20 | ขั้นตอนการศึกษาเซลล์ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ด้วยวิธี cytospin..... | 33 |
| รูปที่ 21 | ลักษณะกระบะเลี้ยงฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. | 35 |
| รูปที่ 22 | การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp.เบื้องต้น ที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2546 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2546..... | 36 |

สารบัญรูป (ต่อ)

| | หน้า |
|---|------|
| รูปที่ 23 การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน ที่สถานี วิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่าง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 37 |
| รูปที่ 23 การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน ที่สถานี (ต่อ) วิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่าง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 38 |
| รูปที่ 24 การชั่งน้ำหนักฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. เพื่อวัดอัตราการเติบโต..... | 38 |
| รูปที่ 25 ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มปั้นย้อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี..... | 40 |
| รูปที่ 26 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของ spicule ในฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp..... | 41 |
| รูปที่ 27 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของ spicule ในฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp..... | 41 |
| รูปที่ 28 ชนิด spicule ที่พบในฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. เปรียบเทียบจากการศึกษาครั้ง นี้กับจากเอกสารการจำแนกชนิดฟองน้ำ | 42 |
| รูปที่ 29 อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกอง หินส้มปั้นย้อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2547..... | 44 |
| รูปที่ 30 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มปั้นย้อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 ใน quadrate ที่ 1..... | 45 |
| รูปที่ 31 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มปั้นย้อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 ใน quadrate ที่ 2..... | 46 |
| รูปที่ 32 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มปั้นย้อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 ใน quadrate ที่ 3..... | 47 |
| รูปที่ 33 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินส้มปั้นย้อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 ใน quadrate ที่ 4..... | 48 |

สารบัญรูป (ต่อ)

| | หน้า | |
|-----------|---|----|
| รูปที่ 34 | พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณกองหินสัมปันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 ใน quadrat ที่ 5..... | 49 |
| รูปที่ 35 | ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. กับอุณหภูมิและความเค็มบริเวณกองหินสัมปันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547.... | 51 |
| รูปที่ 36 | ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. กับปริมาณแพลงก์ตอนพืชบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547..... | 52 |
| รูปที่ 37 | โครงสร้างการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp..... | 54 |
| รูปที่ 38 | โครงสร้างการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อฟองน้ำ (spongin fiber) ในเนื้อเยื่อส่วน Ectosomal skeleton..... | 54 |
| รูปที่ 39 | โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของเซลล์บุผิว (Pinacocyte) และ Archaeocyte ในเนื้อเยื่อส่วน Ectosomal skeleton | 55 |
| รูปที่ 40 | โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของ Spicule และช่องน้ำ (Oscules) ในเนื้อเยื่อส่วน Endosomal skeleton..... | 55 |
| รูปที่ 41 | โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของ Choanocyte layer ในเนื้อเยื่อส่วน Endosomal skeleton | 56 |
| รูปที่ 42 | โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของเอ็มบริโอ (Embryo) ในเนื้อเยื่อส่วน Endosomal skeleton | 56 |
| รูปที่ 43 | โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของถุงสเปิร์ม ในเนื้อเยื่อส่วน Endosomal skeleton..... | 57 |
| รูปที่ 44 | เซลล์ Archaeocyte ในฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. | 58 |
| รูปที่ 45 | เซลล์ Choanocyte ในฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp..... | 58 |
| รูปที่ 46 | ถุงสเปิร์ม (Spermatocyst) และสเปิร์ม (Sperms) ในฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp..... | 59 |
| รูปที่ 47 | เซลล์ไข่ (oocyte) ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp..... | 60 |
| รูปที่ 48 | เอ็มบริโอ (embryo) ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp..... | 61 |

สารบัญรูป (ต่อ)

| | หน้า |
|-----------|--|
| รูปที่ 49 | เปอร์เซ็นต์ของเซลล์สืบพันธุ์แต่ละชนิดในส่วนของเนื้อเยื่อ ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp..... 63 |
| รูปที่ 50 | จำนวนเซลล์และระยะการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในรอบปีระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... 65 |
| รูปที่ 51 | อัตราส่วนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในรอบปีระหว่างเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... 66 |
| รูปที่ 52 | วงจรการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในรอบปี..... 66 |
| รูปที่ 53 | ชนิดและปริมาณเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในรอบปีระหว่าง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... 67 |
| รูปที่ 54 | ปัจจัยสิ่งแวดล้อมลุ่มกับจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. บริเวณ กองหินสัมปณีย้อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547..... 69 |
| รูปที่ 55 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. เริ่มการทดลองเลี้ยงในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง..... 70 |
| รูปที่ 56 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. หลังเลี้ยงได้ 3 เดือนในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง..... 70 |
| รูปที่ 57 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. หลังเลี้ยงได้ 4 เดือนในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง..... 71 |
| รูปที่ 58 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. หลังเลี้ยงได้ 3 เดือนในบ่อในระบบเลี้ยง..... 71 |
| รูปที่ 59 | อัตราการเติบโตสุทธิเฉลี่ยของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ที่เลี้ยงในบ่อรับน้ำจาก ระบบเลี้ยง ระหว่างเดือนมกราคม ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2546..... 72 |
| รูปที่ 60 | อัตราการเติบโตสุทธิเฉลี่ยของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ที่เลี้ยงในบ่อในระบบ เลี้ยงระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2546..... 72 |
| รูปที่ 61 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในชุดการทดลองเลี้ยงในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน เริ่มต้นเลี้ยง..... 73 |
| รูปที่ 62 | น้ำหนักสะสมของฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน..... 74 |
| รูปที่ 63 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง ผ่านไป 2 เดือน..... 74 |
| รูปที่ 64 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในบ่อในระบบเลี้ยง ผ่านไป 2 เดือน..... 75 |
| รูปที่ 65 | ฟองน้ำ <i>Pachastrissa</i> sp. ในบ่อเก็บน้ำดิบ ผ่านไป 2 เดือน..... 75 |
| รูปที่ 66 | ฟองน้ำ <i>Rhabdocalyptus dawsoni</i> 80 |
| รูปที่ 67 | การเปลี่ยนแปลงพื้นที่ของฟองน้ำ <i>Rhabdocalyptus dawsoni</i> ในรอบ 4 ปี..... 80 |

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ฟองน้ำเป็นสัตว์ใน Phylum Porifera มีโครงสร้างของร่างกายเป็นรูพรุน ไม่มีเนื้อเยื่อที่แท้จริง และอาศัยอยู่กับที่ ฟองน้ำส่วนใหญ่เป็นสัตว์ทะเล มีเพียงส่วนน้อยที่เป็นฟองน้ำน้ำจืด

ฟองน้ำเป็นสัตว์ที่มีความหลากหลายของจำนวนชนิดมากกลุ่มหนึ่ง มีการค้นพบชนิดใหม่อยู่ตลอดเวลาและการจำแนกชนิดของฟองน้ำที่พบแล้วทั่วโลกในปัจจุบันก็ยังไม่สามารถจำแนกจนถึงระดับ species ได้หมดเนื่องจากความหลากหลายของโครงสร้างที่เรียกว่า spicules และการจัดเรียงตัวของโครงสร้างภายใน ทั้ง spicules และ spongin fiber ยังมีความแตกต่างกันมาก ความซับซ้อนในการจำแนกชนิดของฟองน้ำเป็นปัจจัยจำกัดที่ทำให้ความรู้พื้นฐานทางด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยาของฟองน้ำยังมีน้อยมาก การที่ฟองน้ำเป็นสัตว์ที่เกาะอยู่กับที่จึงไม่สามารถที่จะหลบหนีศัตรูที่จะมาทำร้ายหรือมากินเป็นอาหารได้ จึงต้องมีการสร้างสารเคมีขึ้นมาเพื่อใช้ในการป้องกันตัวเอง ในปัจจุบันมีการนำสารสกัดที่ได้จากฟองน้ำมาใช้ในทางเภสัชวิทยามากขึ้น จากการทดลองพบว่าสารที่สกัดได้จากฟองน้ำหลายชนิดเป็นสารที่อาจจะสามารถพัฒนาไปเป็นยารักษาโรคในมนุษย์ได้ ซึ่งสารเคมีที่สกัดได้นี้เมื่อนำมาทดสอบเบื้องต้นแล้วสามารถจะยับยั้งการแบ่งเซลล์ของเซลล์มะเร็งและสามารถฆ่าเชื้อไวรัสหรือเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียได้ ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ให้สารเคมีชื่อว่า Pachastrissamine ซึ่งมีผลยับยั้งเชื้อรา *Penicillium* และสารเคมี Bengazoles และ Bengamide ซึ่งมีผลยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังและการตกขาวในเพศหญิง (Kuroda, 2002 และ Fernandez, 1999)

ปัจจุบันมีฟองน้ำอยู่เพียงไม่กี่ชนิดที่ได้รับความสนใจเนื่องจากมีความสำคัญและถูกนำมาใช้ประโยชน์ กลุ่มที่มีการนำมาใช้ประโยชน์มากได้แก่กลุ่มของฟองน้ำฤดูตัว ซึ่งจัดอยู่ใน Class Demospongiae และอีกกลุ่มหนึ่งเป็นกลุ่มที่มีการสร้างสารเคมีขึ้นมาและยังอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดที่ได้มาใช้เป็นยารักษาโรคสำหรับมนุษย์ ในขั้นตอนการศึกษาหรือทดสอบพิษของสารเคมีที่สร้างขึ้นจากฟองน้ำต้องให้ปริมาณในธรรมชาติค่อนข้างมาก เช่นจากตัวอย่างฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. 33.8 กิโลกรัม สกัดได้สาร Kabiramide ซึ่งผลต่อการทำงานของ actin ในกล้ามเนื้อมาเพียง 536.2 มิลลิกรัม (คณิต สุวรรณบริรักษ์, 2546) การเก็บตัวอย่างมาแต่ละครั้งอาจเก็บมาถึง 70 % ของปริมาณที่มีอยู่ในธรรมชาติซึ่งบางชนิดมีอยู่ในปริมาณที่

จำกัด การเก็บตัวอย่างฟองน้ำมาใช้ประโยชน์เป็นจำนวนมากในแต่ละครั้งย่อมส่งผลถึงการลดลงทั้งชนิดและปริมาณของฟองน้ำ การเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณฟองน้ำจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศแนวปะการังที่ฟองน้ำอาศัยอยู่ได้ การอนุรักษ์แหล่งฟองน้ำและการพัฒนาการเพาะเลี้ยงฟองน้ำเป็นแนวทางที่สำคัญที่จะช่วยให้ความหลากหลายทางชีวภาพและความสมบูรณ์ของฟองน้ำคงอยู่ควบคู่ไปกับการนำฟองน้ำมาใช้ประโยชน์ การศึกษาด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ตลอดจนการศึกษานิเวศวิทยาของฟองน้ำเช่นแหล่งที่อยู่อาศัย ลักษณะการกระจายและการเติบโตจึงมีประโยชน์ในการนำมาใช้ด้านการอนุรักษ์และเพาะเลี้ยงในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (Demospongiae: Astrophorida: Calthropellidae) บริเวณกองหินส้มบันย็อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะการกระจายและการเติบโตในธรรมชาติของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในรอบปีตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมในตาราง quadrat ที่กำหนดไว้ถาวรในธรรมชาติบริเวณกองหินส้มบันย็อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี
2. ศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในรอบปีตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 โดยการเก็บตัวอย่างในภาคสนามร่วมกับการศึกษาในห้องปฏิบัติการ
3. ศึกษาการเติบโตของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในโรงเพาะเลี้ยงตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ใหม่ด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เพื่อสามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านการอนุรักษ์และการเพาะเลี้ยงในอนาคต
2. ได้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับการเติบโตของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. สำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงในอนาคตเพื่อให้สามารถรักษาความสมบูรณ์ของฟองน้ำในแหล่งน้ำควบคู่ไปกับการนำมาใช้ประโยชน์

การสำรวจเอกสาร

1. ลักษณะทั่วไปของฟองน้ำ

ฟองน้ำเป็นสัตว์อยู่ใน Phylum Porifera จัดเป็นสัตว์หลายเซลล์กลุ่มแรกซึ่งมีการจัดเรียงตัวของเซลล์แบบง่าย ๆ ฟองน้ำไม่มีอวัยวะทำหน้าที่พิเศษแต่มีเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ยึดหดพัฒนาอย่างดี มีเซลล์หรือกลุ่มเซลล์ที่ทำหน้าที่ต่างกันตามความซับซ้อนของโครงสร้างลำตัวซึ่งประกอบด้วยระบบท่อน้ำเพื่อลำเลียงน้ำผ่านลำตัว ความซับซ้อนของระบบท่อน้ำของฟองน้ำทำให้การแบ่งฟองน้ำออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่ม Asconoid กลุ่ม Syconoid และกลุ่ม Leuconoid (Rupert & Barnes, 1994 และ Hickman, 1994) ฟองน้ำส่วนใหญ่เป็นสัตว์ทะเลพบได้ทั่วไปตามก้อนหิน เปลือกหอยและระบบนิเวศแนวปะการัง พบได้ตั้งแต่บริเวณชายฝั่งไปจนถึงทะเลลึก ฟองน้ำจำนวนมากชนิดที่พบในแหล่งน้ำจืด สีของฟองน้ำจะมีแตกต่างกันตั้งแต่สีเข้มดำไปจนถึงสีสด เช่น เขียว เหลือง ส้ม แดง หรือม่วง เป็นต้น

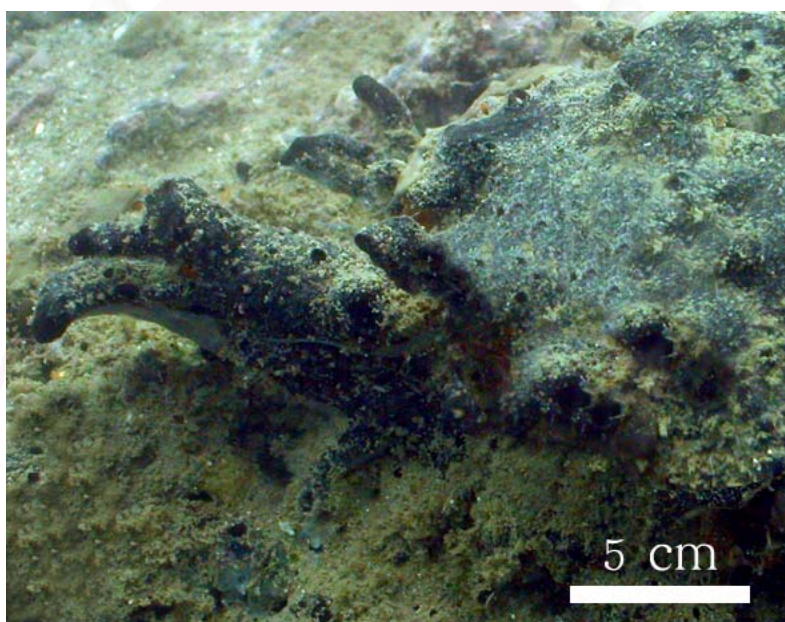
ฟองน้ำกลุ่ม Asconoid มักมีขนาดเล็กและมีรูปร่างแบบง่ายเป็นท่อหรือทรงกระบอกบนตัวฟองน้ำมีรูพรุนทั่วตัวซึ่งเป็นทางให้น้ำเข้าภายในตัว เรียกว่า ostia น้ำที่เข้าทางรูพรุนเล็กๆ ทั่วตัวจะเข้าสู่ช่องว่างภายในตัวเรียกว่า spongocoel และน้ำไหลออกภายนอกทางช่องน้ำออกเรียกว่า osculum ฟองน้ำกลุ่ม Syconoid และ Leuconoid มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีระบบท่อน้ำที่แตกแขนงซับซ้อนเพื่อเพิ่มพื้นที่สำหรับการกรองอาหารให้ได้มากพอกับขนาดตัวมันอีกทั้งเพื่อรับน้ำที่ผ่านการกรองอาหารแล้วให้ออกไปไกลตัว ระบบโครงสร้างแข็งภายในของฟองน้ำก็มีความซับซ้อนประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่คือเป็นโครงสร้างแข็งเรียก spicules ซึ่งอาจเป็นส่วนประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนตหรือซิลิกาและส่วนประกอบที่เป็นเส้นใยโปรตีนเรียกว่า spongin fiber (Bergquist, 1978; Hickman, 1994 และ Rupert & Barnes, 1994)

ฟองน้ำเป็นสัตว์ที่กินอาหารโดยการกรองอาหารจากมวลน้ำ (filter feeder) โดย choanocytes ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์พิเศษที่มี flagella พัดโบกให้เกิดกระแสน้ำเวียนวนตามรูพรุน และระบบท่อน้ำทั่วตัวและกรองอาหารจากน้ำ อาหารของฟองน้ำส่วนใหญ่เป็นอินทรีย์สารขนาดเล็กแบบที่เรีย แพลงก์ตอนพืชขนาดเล็กรวมทั้งแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีขนาดเล็กด้วย การย่อยอาหารจะเกิดขึ้นภายในเซลล์ choanocyte ฟองน้ำมีเซลล์พิเศษอีกชนิดหนึ่งคือ archaeocyte ที่ทำหน้าที่ได้หลายอย่างเช่น สะสมอาหาร สร้างเซลล์สืบพันธุ์หรือทำหน้าที่ในการสร้างโครงสร้างแข็งของร่างกาย (Bergquist, 1978; Hickman, 1994 และ Rupert & Barnes, 1994)

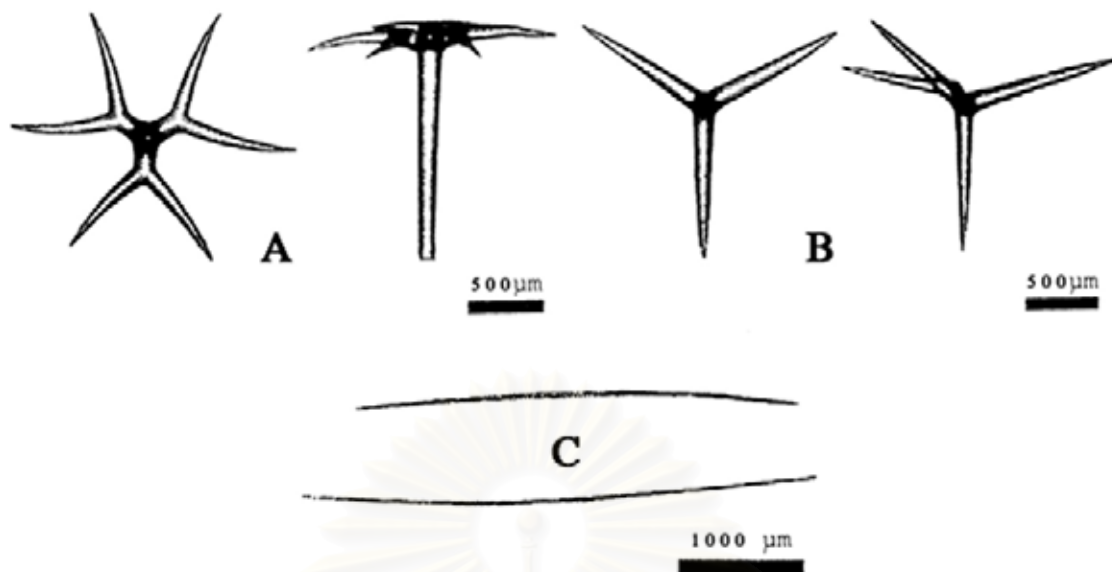
ฟองน้ำมักเกาะอยู่กับที่เป็นกลุ่มก้อนและมีบางชนิดที่อยู่เดี่ยวๆ ฟองน้ำมักเป็นที่อยู่ของพวกสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสงเช่นพวก Zooxanthellae และพวก Cyanobacteria ซึ่งทำให้ฟองน้ำมีสีสันต่าง ๆ โดยเฉพาะสีเขียว สีเหลืองและสีม่วง นอกจากนี้ฟองน้ำยังเป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์ทะเลชนิดอื่น เช่น กุ้ง ปู และดาวเปราะ Rützler and Diaz (2001) และ สุเมตต์ ปุจฉากร (2547) ได้สรุปบทบาทของฟองน้ำในระบบนิเวศทางทะเลว่าเป็นเครื่องกรองน้ำทางชีวภาพในทะเลเนื่องจากฟองน้ำสามารถกรองน้ำทะเลผ่านตัวได้มากกว่าสิบเท่าของปริมาตรตัวมันเองได้ในหนึ่งชั่วโมงและทำงานต่อเนื่องอยู่ตลอดเวลาทั้งวันและคืน ฟองน้ำมีการสร้างสารเคมีเพื่อป้องกันตัวมันเองจากผู้ล่าเหยื่อตลอดจนป้องกันการลงเกาะตามผิวลำตัวของมันโดยสัตว์ทะเลชนิดอื่น พบว่าฟองน้ำหลายชนิดเป็นพิษทำให้ปลาหลายชนิดเลี้ยงที่จะกินมันเป็นอาหาร แต่เต่าหลายชนิดกินฟองน้ำเป็นอาหารได้ และฟองน้ำได้รับความสนใจในการนำสารสกัดมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคได้

2. ลักษณะของฟองน้ำ *Pachastrassa* sp.

ฟองน้ำชนิดนี้จัดอยู่ใน Phylum Porifera, Class Demospongiae, Order Astrophorida, Family Calthropellidae, (Hooper, 2000) ฟองน้ำใน Order Astrophorida มีรูปแบบการสืบพันธุ์แบบแยกเพศและออกลูกเป็นไข่ (oviparous) (Sara, 1992) ลักษณะเด่นของฟองน้ำวงศ์ Calthropellidae คือ มีขนาดใหญ่และมีรูปร่างเป็นก้อนค่อนข้างกลม (รูปที่ 1) มีลักษณะ spicules ที่มีลักษณะเด่นรูป Calthrope และ Oxeas (รูปที่ 2) ฟองน้ำชนิดนี้มีขนาดใหญ่ มักมีสีเข้มพบได้ตามพื้นหินในแนวปะการัง (Hooper, 2002)



รูปที่ 1 ฟองน้ำ *Pachastrassa* sp. บริเวณกองหินสัมปันย้อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี



รูปที่ 2 ชนิดของ spicule ที่พบในฟองน้ำ *Pachastrassa* sp.

A. Dichotriaenes, B. Calthropes, C. Oxeas

ดัดแปลงจาก Hooper (2002)

3. รูปแบบของการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ

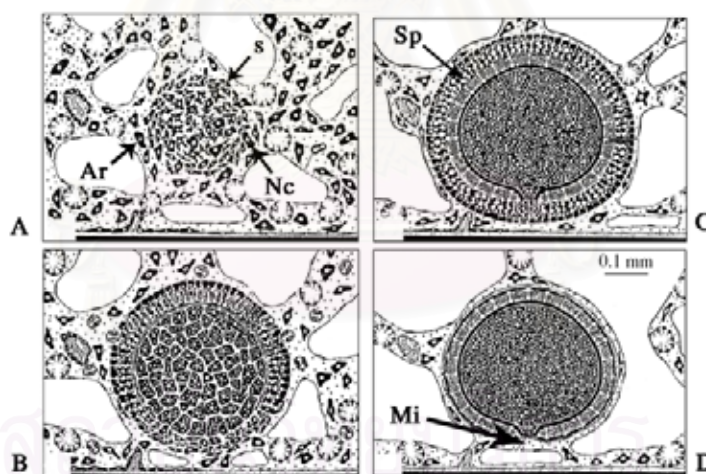
การสืบพันธุ์ของฟองน้ำพบได้ 2 แบบคือการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ แต่ฟองน้ำส่วนใหญ่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศซึ่งมีรูปแบบที่แตกต่างกัน การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมักพบในฟองน้ำน้ำจืดโดยการสร้าง gemmules และโดยการแตกหน่อ

3.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

ฟองน้ำสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการใช่เซลล์พิเศษที่เรียกว่า Archaeocyte หรือ เซลล์ Amoebocyte ขนาดใหญ่นำมารวมตัวกันเกิดโครงสร้างที่เรียกว่า gemmules ลักษณะพิเศษของ gemmules ก็คือเป็นมีลักษณะเปลือกหุ้มหนาประกอบด้วย spongin fiber และ spicules ทำให้มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ภาวะที่มีอุณหภูมิหรือความเค็มสูงหรือต่ำเกินไปได้ (Barnes, 1989) ช่วงเวลาที่สร้าง gemmules ในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันขึ้นกับปัจจัยสภาพแวดล้อมและพื้นที่ที่ฟองน้ำชนิดนั้นอาศัยอยู่เช่น Wilson (1937 อ้างตาม Fell, 1974) ได้ศึกษาฟองน้ำ *Mycale (Esperella) fibrexillis* ในรัฐ Massachusetts ประเทศอเมริกา พบว่าฟองน้ำชนิดนี้สร้าง gemmules ในช่วง เดือนกรกฎาคม ถึงเดือนสิงหาคม และ Burquist (1970 อ้างตาม Fell, 1974) ได้ศึกษาฟองน้ำ *Mycale macilenta* บริเวณตอนเหนือของประเทศ

นิวซีแลนด์ พบว่าสร้าง gemmules ได้ตลอดปี การศึกษาการเจริญของ gemmules ได้มีการศึกษาอย่างละเอียดในฟองน้ำน้ำจืด Spongillidae ในฟองน้ำ Order Haplosclerida (Ereskovskii, 1999) gemmules เกิดจากเซลล์ archaeocyte spongocyte และ nurse cell มารวมตัวกัน แล้วมีการสร้างเกราะหุ้มภายนอก (รูปที่ 3) gemmule ของฟองน้ำ Order Haplosclerida มีขนาดประมาณ 250-500 μm . นอกจากการสืบพันธุ์แบบสร้าง gemmules แล้วฟองน้ำยังสามารถจะแตกหน่อเพื่อเพิ่มจำนวนได้ด้วย ในบางชนิดหน่อเมื่อหลุดออกจากตัวแม่ก็สามารถสร้างเป็นตัวใหม่ขึ้นมาได้ เช่นฟองน้ำ *Mycale contarenii* พบว่ามีการสร้างหน่อเป็นรูปทรงกลมที่ไม่มีก้านและเมื่อหน่อหลุดออกมาก็สามารถสร้างเป็นโคลนใหม่ขึ้นมาได้ (Corriero et al., 1998)

ขั้นตอนการสร้าง gemmules (รูปที่ 3) เริ่มจากกลุ่มเซลล์ archaeocyte spongocyte และ nurse cells มารวมตัวกัน (รูปที่ 3A) ต่อมา มีการจัดเรียงตัวของ spicules กับ spongin fiber รวมกันสร้างเป็นเกราะรอบ gemmules (รูปที่ 3B และ 3C) เมื่อการสร้าง gemmules เสร็จสมบูรณ์ gemmules สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงรุนแรงได้และเมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสม เซลล์ฟองน้ำจะออกมาจาก gemmules ทางช่อง micropile และเจริญเป็นฟองน้ำโคลนใหม่ต่อไป (รูปที่ 3D) (Ereskovskii, 1999)



รูปที่ 3 การสร้าง gemmules (gemmulogenesis) ในฟองน้ำ Order Haplosclerida

A กลุ่มเซลล์ archaeocyte spongocyte และ nurse cell มารวมตัวกัน

B spicule และ spongin fiber เริ่มรวมกันเป็นเกราะรอบ gemmules

C เกราะหุ้มรอบ gemmules เริ่มพัฒนาขึ้น

D การสร้าง gemmules เสร็จสมบูรณ์

Ar = archaeocyte s = spongocyte Nc = nurse cell Sp = spicule Mi = micropile

ดัดแปลงจาก Ereskovskii (1999)

3.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

ฟองน้ำมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แบ่งตาม Fell ในปี ค.ศ. 1974 แบ่งได้ 2 แบบ คือ แยกเพศ (Gonochorism) และมี 2 เพศในตัวเดียวกันหรือกระเทย (Hermaphrodism) ในกลุ่มกระเทยแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในเวลาเดียวกัน (Contemporaneous hermaphrodism) และกลุ่มที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์คนละช่วงเวลาแต่ต่อเนื่องกัน (Successive hermaphrodism) Fell ในปี ค.ศ.1974 (อ้างตาม Asa, 2000) ได้ศึกษาฟองน้ำ *Oscella loburis* พบว่ามีการสืบพันธุ์แบบ Contemporaneous hermaphrodism คือมีทั้งสองเพศในตัวเดียวกัน และมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาในเวลาเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Asa ในปี ค.ศ.2000 ที่พบว่าในฟองน้ำ *Petrosia* sp. บริเวณเกาะสีชัง มีรูปแบบการสืบพันธุ์แบบ Contemporaneous hermaphrodism

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ส่วนใหญ่จะเป็น Hermaphrodism โดยมีการปล่อย สเปิร์ม ออกทางช่อง osculum จากฟองน้ำอีกตัวหนึ่ง และมีการรับ สเปิร์ม เข้าไปในตัวทางช่อง ostium โดย choanocyte เป็นตัวจับสเปิร์ม และส่งต่อไปยังไข่ (Barnes *et al.*, 1989) Fromont ในปี ค.ศ. 1998 (อ้างตาม Asa, 2000) ได้ศึกษาฟองน้ำกลุ่ม Demospongiae ได้แก่ฟองน้ำ *Mycale* sp. ศึกษาที่รัฐ South Mole เมือง Fremantle ฝั่งตะวันตกของประเทศออสเตรเลียพบฟองน้ำมีรูปแบบการสืบพันธุ์เป็นแบบ viviparous contemporaneously hermaphrodite คือมีการสร้างไข่และสเปิร์มในเวลาเดียวกันและออกลูกเป็นตัว พบเซลล์สืบพันธุ์ในธรรมชาติได้ในเดือน ธันวาคม ค.ศ.1997 และเดือนมกราคม ค.ศ.1998 และสรุปรูปแบบการสืบพันธุ์ของฟองน้ำบางชนิดใน Class Demospongiae ได้ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รูปแบบการสืบพันธุ์ของฟองน้ำบางชนิดใน Class Demospongiae

G = Gonochorism Hs = Successive hermaphrodism Hc = Contemporaneous hermaphrodism

O = Oviparous V = Viviparous

| ลำดับ | ครอบครัว | ชนิด | รูปแบบเพศ | Oviparity/ Viviparity | ที่มา |
|-----------------|-----------------|------------------------------|-----------|--------------------------|---------------------------------------|
| Astrophorida | - | - | G | O | Sara (1992) |
| Hadromerida | Polymastia | <i>Polyamastia granulose</i> | Hs | V | Fell (1969) (อ้างตาม Bergquist, 1978) |
| Poecilosclerida | Mycalidae | <i>Mycale fistulifera</i> | Hs | V | Meroz and Ilan (1995) |
| | | <i>Mycale</i> sp. | Hs | V | Fromont (1998) (อ้างตาม Asa, 2000) |
| Haplosclerida | Petrodiidae | <i>Petrosia</i> sp. | Hc | V | Asa (2000) |
| | Haliclonidae | <i>Haliclona ecbasis</i> | Hs | V | Fell (1969) (อ้างตาม Sara, 1992) |
| | - | - | Hs | V | Ereskovskii (1999) |
| Halisarcida | Halisarca | <i>Halisarca dujadini</i> | G | V | Ereskovsky (2000) |
| Astrophorida | Calthropellidae | <i>Pachastrissa</i> sp. | Hs | V | การศึกษาคั้งนี้ |

4. การเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

ฟองน้ำส่วนใหญ่ จะมีช่วงระยะเวลาในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ปีละครั้ง ช่วงการสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะกว้างหรือแคบก็ขึ้นอยู่กับชนิดของฟองน้ำ เช่น ในกลุ่มของฟองน้ำที่ออกลูกเป็นตัว (viviparous) เช่นฟองน้ำ *Haliclona ecbasis* พบเซลล์สืบพันธุ์ได้ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน และกลุ่มที่ออกลูกเป็นไข่ (oviparous) มักจะมีช่วงการสืบพันธุ์ที่แคบกว่า เช่น ในฟองน้ำ *Axnella damicornis* พบเซลล์สืบพันธุ์เฉพาะเดือนพฤษภาคม (Fell, 1977 และ Siribelli, 1962 อ้างตาม Reiswig, 1983)

Asa (2000) (ตารางที่ 2) ได้ศึกษาการเจริญของฟองน้ำ *Petrosia* sp. ในอ่าวไทย ตอนใน พบฟองน้ำมีการเจริญในรอบปี คือ มีการเติบโตในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนตุลาคม มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียในเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนเมษายนพร้อมกันและพบเอ็มบริโอที่เจริญภายในเนื้อเยื่อของฟองน้ำและตัวอ่อนที่เป็นแพลงก์ตอนได้ในมวน้ำช่วงเดือน ธันวาคมถึงเดือนเมษายน ส่วนฟองน้ำอีกชนิดที่อยู่ใน Class Demospongiae เหมือนกันแต่อยู่ในเขตหนาว โดยศึกษาที่ White Sea ประเทศรัสเซียมีอุณหภูมิน้ำอยู่ระหว่าง - 0.6 องศาเซลเซียส ถึง 12 องศาเซลเซียส โดย Ereskovsky (2000) ซึ่งศึกษาชีววิทยาการเจริญของฟองน้ำ *Halisarca dujadini* พบมีการเจริญในรอบปีคือจะมีการเจริญเพิ่มขนาดของลำตัวในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนธันวาคม (อุณหภูมิประมาณ 12 องศาเซลเซียส) หลังจากนั้นจะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตั้งแต่เดือนธันวาคม จนถึงเดือนมิถุนายน เริ่มพบสเปิร์มในเดือนธันวาคม ถึงกลางเดือนพฤษภาคมมีอุณหภูมิประมาณ - 0.1 องศาเซลเซียสเริ่มพบไข่ระยะแรก (early developed) ปลายเดือนธันวาคมมีอุณหภูมิประมาณ - 0.6 องศาเซลเซียส ต้นเดือนพฤษภาคมไข่เริ่มมีการสะสมไข่แดง และไข่จะสมบูรณ์ช่วงปลายเดือนพฤษภาคมอุณหภูมิประมาณ 2 องศาเซลเซียส ถึงต้นเดือนมิถุนายน อุณหภูมิประมาณ 10 - 12 องศาเซลเซียสมีไข่จำนวนมากสุดและเริ่มพบเอ็มบริโอในเนื้อเยื่อ จนถึงกลางเดือนกรกฎาคม และจะพบตัวอ่อนในมวน้ำได้ช่วงกลางเดือนกรกฎาคม ถึง เดือนสิงหาคม สำหรับการเจริญของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบริเวณที่ศึกษาคาดว่าจะมีการเจริญในรอบปีเช่นเดียวกับกลุ่มฟองน้ำที่ศึกษาโดย Asa (2000) เนื่องจากเป็นลักษณะเด่นของฟองน้ำในแนวปะการังที่อยู่ในเขตร้อนซึ่งอยู่ในบริเวณเดียวกัน

ตารางที่ 2 ระยะเวลาเจริญในรอบปีของฟองน้ำ *Petrosia* sp. (Asa, 2000) และฟองน้ำ *Halisarca dujadini* (Ereskovsky, 2000)

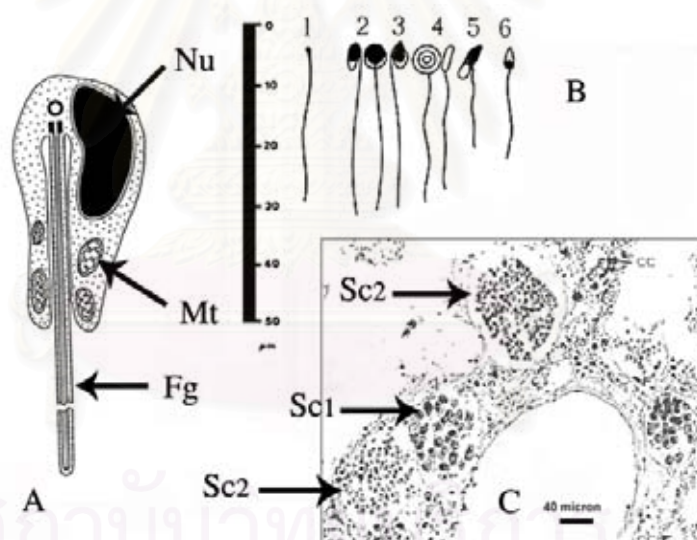
| ระยะเวลาเจริญ | <i>Petrosia</i> sp. | <i>Halisarca dujadini</i> |
|-----------------|---------------------|---------------------------|
| Growth | เมษายน- ตุลาคม | สิงหาคม-ธันวาคม |
| Spermatogenesis | พฤศจิกายน- เมษายน | ธันวาคม- มีนาคม |
| Oogenesis | พฤศจิกายน- เมษายน | ธันวาคม- มิถุนายน |
| Embryo | ธันวาคม- เมษายน | มิถุนายน- กรกฎาคม |
| Larvae | ธันวาคม- เมษายน | กรกฎาคม- สิงหาคม |

4.1 การสร้างสเปิร์ม (Spermatogenesis)

การสร้างสเปิร์ม (sperms) จากการศึกษานี้ของ Fincher ในปี ค.ศ.1940 (อ้างตาม Reiswig, 1983) ในฟองน้ำ *Hymeniacidon (Stylotella) heliophila* สเปิร์มเกิดขึ้นหลังจากที่เซลล์ไข่ (Oocyte) เจริญได้สมบูรณ์ประมาณ 1 – 4 สัปดาห์ และสัมพันธ์กับผลการศึกษาของ Tuzet และ Paris ในปี 1964 (อ้างตาม Reiswig, 1983) ที่ศึกษาในฟองน้ำ *Octavella galanganai* จากการศึกษาของ Simson (1968) และ Diaz (1973) (อ้างตาม Reiswig, 1983) พบว่าไข่ที่เจริญสมบูรณ์จะสร้างสารเคมีขึ้นมากกระตุ้นให้ฟองน้ำสร้างสเปิร์ม การเจริญของสเปิร์มเริ่มจากเซลล์ choanocyte ที่อยู่ใน choanocyte chamber มีการเจริญและหลุดออกมาจากระบบท่อเข้ามาอยู่ในเนื้อเยื่อกลายเป็นถุงสเปิร์ม (Spermatid cyst) ซึ่ง Chen (1976) (อ้างตาม Reiswig, 1983) ได้ศึกษาในฟองน้ำ *Halisarca nahantensis* และฟองน้ำ *H. dujadini* พบว่าขนาดของถุงสเปิร์มแตกต่างกันแล้วแต่ชนิด ตั้งแต่ 15 ถึง 200 μm . พบกระจายทั่วไปในเนื้อเยื่อในช่วงที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (Reiswig, 1983) ลักษณะขององค์ประกอบภายในสเปิร์มมีองค์ประกอบหลักคล้ายกัน (รูปที่ 4A) คือ มี nucleus mitochondria และ flagellum ความยาวของสเปิร์มมีตั้งแต่ 5 μm . ไปจนถึง 50 μm . ขนาดของ Spermatozoa มีความยาวแตกต่างกันตาม (รูปที่ 4B) ในฟองน้ำ *Mycale fistulifera* พบถุงสเปิร์มขนาด (86 \pm 14 μm .) กระจายอยู่รอบ choanosome (รูปที่ 4C) จากการศึกษาครั้งนี้คาดว่าสเปิร์มน่าจะเจริญมาจาก amoebocyte มากกว่ามาจาก choanocyte เมื่อเทียบจากขนาดของสเปิร์ม ที่ใหญ่กว่าและจำนวนของ choanocyte ใน choanocyte chamber ที่มีมากกว่าใน ถุงสเปิร์ม โดยระยะแรก (primary spermatids) สเปิร์มจะมีขนาดใหญ่และเมื่อมีการเจริญ สมบูรณ์ขึ้น (advanced spermatids) นิวเคลียสของสเปิร์มจะมีขนาดเล็กลงและหางมีการเจริญขึ้น (Moroz and Ilan, 1995)

4.2 การสร้างไข่ (Oogenesis)

ไข่ของฟองน้ำใน Class Calcareaous บางชนิด และใน Subclass Tetractinomorpha ซึ่งอยู่ใน Class Demospongiae ศึกษาโดย Fell ในปี ค.ศ.1983 พบว่าไข่มีขนาดไม่เกิน 55 μm . แต่ในฟองน้ำ ใน Class Demospongiae บางชนิดมีไข่ขนาดใหญ่กว่า 200 μm . ในฟองน้ำ Order Haplosclerida การสร้างไข่เริ่มจาก amoebocyte cell (รูปที่ 5A) มีการเปลี่ยนแปลงและมีการเจริญร่วมกับ nurse cells ซึ่งทำหน้าที่ในการสะสมอาหาร (yolk) ซึ่งเป็นลักษณะเด่นในฟองน้ำกลุ่มนี้ โดยกระบวนการสร้างไข่ เซลล์ไข่จะมีการขยายขนาดอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเซลล์ไข่ phagocytosis เซลล์ของ nurse cell เข้าไปทั้งเซลล์ (รูปที่ 5 A, B และ E) (Ereskovskii, 1999) สำหรับฟองน้ำ *Mycale fistulifera* มี ไข่ขนาด (376 \pm 41 μm .) และมีการกระจายอยู่ทั่วไปในเนื้อเยื่อ ในไข่ระยะแรกสามารถสังเกตเห็น nucleus และ nucleolus ขนาดใหญ่ได้ชัดเจน ไข่มี follicular cells ล้อมรอบใน (รูปที่ 5C และ 5D) การเจริญไปจนถึงระยะที่เจริญเต็มที่นั้นเซลล์ไข่มีขนาดใหญ่มากขึ้นเนื่องจากมีการสะสมไข่แดง (yolk) ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 5F และ 5G) (Moroz and Ilan, 1995)



รูปที่ 4 สเปิร์ม (sperms) ของฟองน้ำบางชนิด

A โครงสร้าง Spermatozoa ของฟองน้ำ Order Haplosclerida.

B รูปร่างของสเปิร์มในฟองน้ำ 1: *Haliclona permollis* 2: *Halisarca nahantensis*

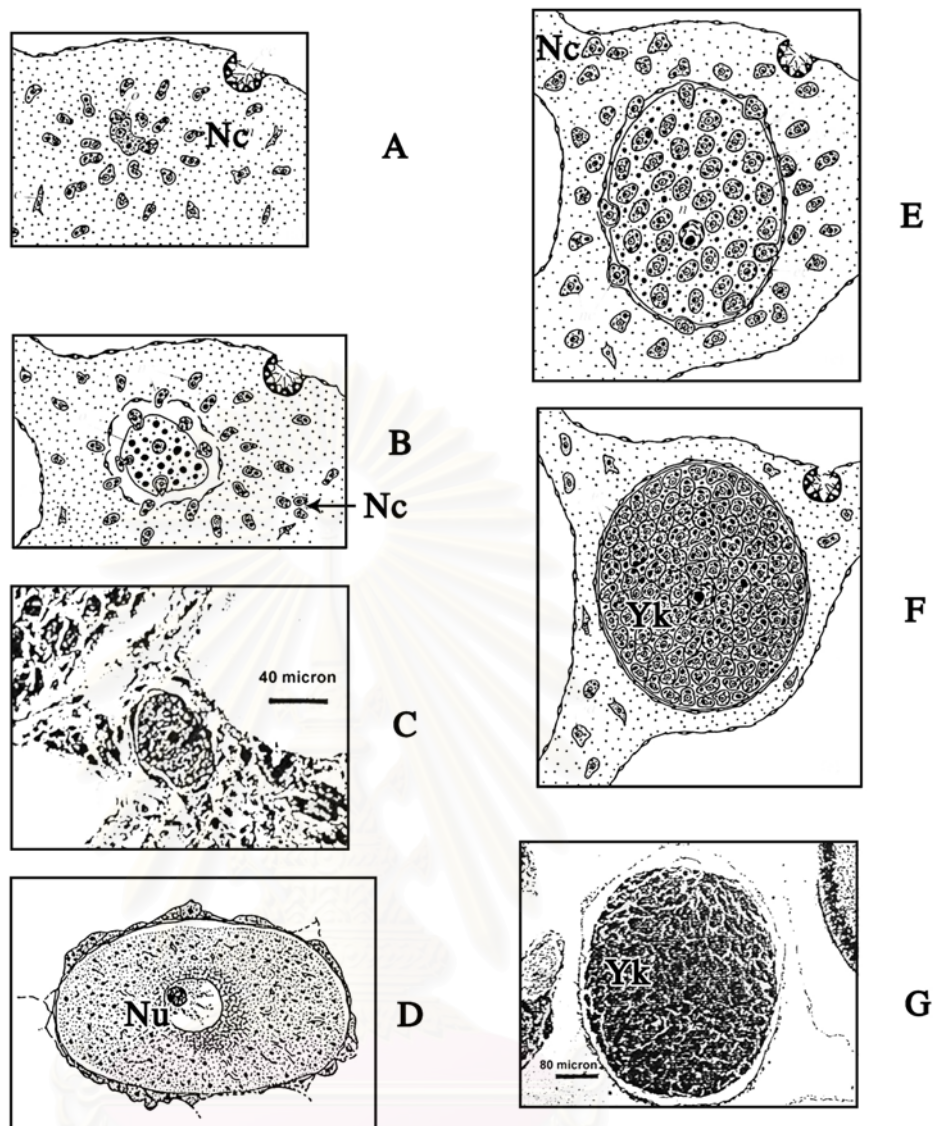
3: *H. Dujadini* 4: *H. Dujadini* 5: *H. Dujadini* 6: *H. metschnikovi*

C ถุงสเปิร์ม (spermatid) ในฟองน้ำ *Mycale fistulifera* TEM

Nu = nucleus, Mt = mitochondria, Fg = flagellum Sc1 = spermatid ระยะที่ 1

Sc2 = spermatid ระยะที่ 2

ดัดแปลงจาก Ereskovskii (1999); Reiswig (1983) และ Moroz and Ilan (1995)



รูปที่ 5 การเจริญของไข่ (oocyte) ในฟองน้ำบางชนิด

A กลุ่ม nurse cell มารวมตัวกัน ของฟองน้ำ Order Haploclerida

B ไข่ระยะ early developed ของฟองน้ำ Order Haploclerida

C ไข่ระยะ early developed ของฟองน้ำ *Mycale fistulifera*

D ไข่ระยะ early developed ของฟองน้ำ *Polymastia granulose* (Hadromerida)

E ไข่ระยะ more developed ของฟองน้ำ Order Haploclerida

F ไข่ระยะ fully developed ของฟองน้ำ Order Haploclerida

G ไข่ระยะ fully developed ฟองน้ำ *Mycale fistulifera*

Nu = nucleus, Nc = nurse cell, Yk = yolk

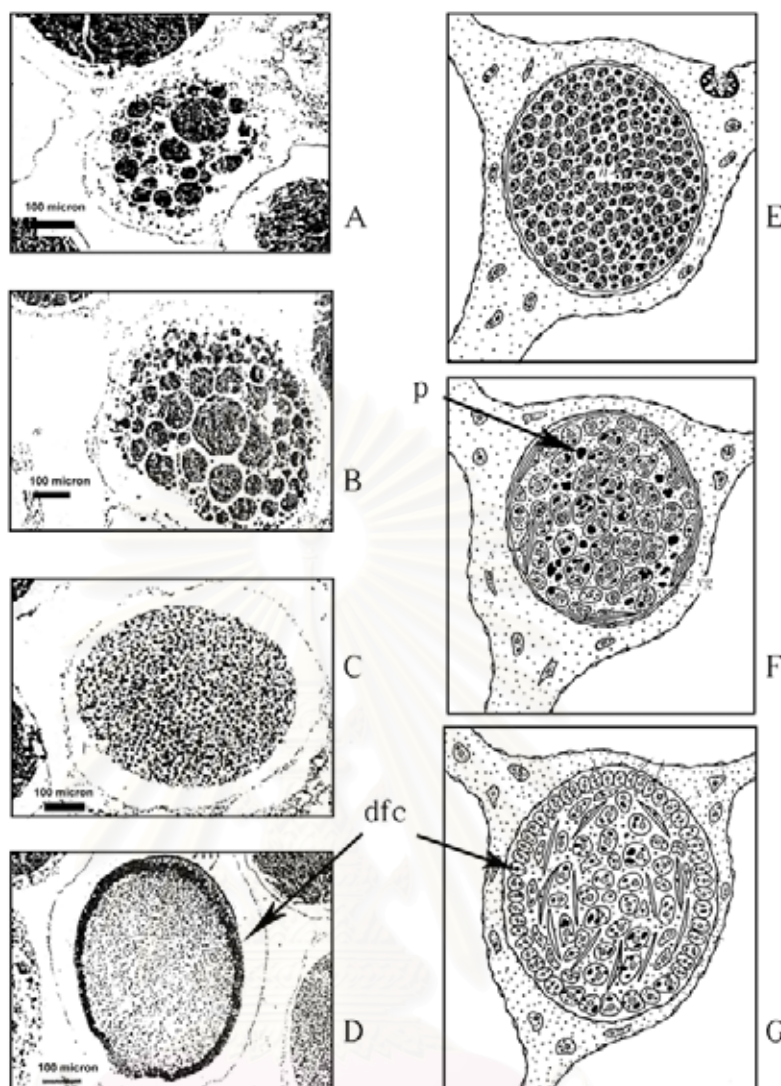
ดัดแปลงจาก Bergquist (1978) และ Moroz and Ilan (1995)

4.3 การเจริญของเอ็มบริโอ (embryo)

การเจริญของเอ็มบริโอฟองน้ำเริ่มภายหลังจากการปฏิสนธิระหว่างสเปิร์มกับไข่ ส่วนใหญ่การปฏิสนธิเกิดภายในลำตัวของฟองน้ำโดยฟองน้ำส่วนใหญ่จะปล่อยสเปิร์มไปในมวลน้ำ จากนั้นสเปิร์มจะเข้าไปผสมกับไข่ได้โดยผ่านการกรองแล้วถูกดักจับไว้โดย choanocyte หลังจากนั้นสเปิร์มเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากที่มีหางว่ายน้ำ เป็นรูปแบบคล้าย amoeba cells เคลื่อนที่เข้าไปผสมกับไข่ เอ็มบริโอจะมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน ช่วงแรกจะมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วซึ่งจะเห็นได้จากเซลล์ที่ได้มีขนาดไม่เท่ากัน (รูปที่ 6A และ 6B) โดยเฉพาะเซลล์ที่อยู่ด้านนอกจะแบ่งเซลล์ได้เร็วกว่า แต่เมื่อเวลาผ่านไปเซลล์ทั้งหมดจะมีขนาดเล็กลงเท่ากัน (รูปที่ 6C และ 6E) และมีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ต่าง ๆ โดยเซลล์ที่อยู่ด้านนอกจะมีการจัดเรียงตัวกันแน่น (รูปที่ 6D และ 6G) และมีการสร้าง cilia รอบตัวยกเว้นที่ขั้วด้านหน้าและด้านหลัง (anterior pole and posterior pole) เซลล์กลุ่มแรกในเอ็มบริโอ ที่มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่คือเซลล์ sclerocytes โดยจะสร้าง spicules กระจายทั่วทั้งตัว (รูปที่ 6G) และกลุ่มเซลล์ต่อมาที่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ที่มี flagella คือเซลล์ที่อยู่ผิวซึ่งช่วยในการเคลื่อนไหวและว่ายน้ำในตัวอ่อน (larvae) (รูปที่ 6D และ 6G) (Ereskovskii, 1999) เมื่อแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเซลล์ มีการเจริญจนกระทั่งได้ตัวอ่อนที่เรียกว่า planula larva ซึ่งเมื่อถูกปล่อยจากตัวแม่จะมีสภาพเป็น planktonic larva ซึ่งเคลื่อนที่โดยอาศัยการพัดพาของมวลน้ำ เมื่อเจริญถึงระยะที่เหมาะสม จึงลงเกาะกับพื้นผิว (substrate) ที่เหมาะสมต่อไป

4.4 การเจริญของตัวอ่อน (Larvae)

การเจริญของตัวอ่อนจะเกิดขึ้นในตัวแม่ ตัวอ่อนส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบ Parenchymella larva (รูปที่ 7A - 7D) มี flagella รอบตัวยกเว้นส่วนท้ายและส่วนหัวของลำตัวสามารถแยกส่วนหัวกับส่วนท้ายออกจากกันได้ด้วย pigment ที่ปรากฏ โดย pigment ส่วนใหญ่จะมีหนาแน่นที่ส่วนท้ายของลำตัว และจะมีการสร้าง spicule ภายในตัวด้วย (รูปที่ 7C) (Moroz and Ilan, 1995) ส่วนรูปแบบการเจริญของตัวอ่อนอีกรูปแบบหนึ่งก็คือรูปแบบ amphiblastula larva (รูปที่ 7E) คือมี ลำตัวกลม มี flagella รอบตัว พบเฉพาะในฟองน้ำใน Class Calcarea (Barnes, 1989) เช่นในฟองน้ำ *Leucandra abratsbo* (Fell, 1997)



รูปที่ 6 การเจริญของเอ็มบริโอ (embryo) ในฟองน้ำบางชนิด

A-D ฟองน้ำ *Mycale fistulifera* โดยที่;

A เอ็มบริโอ ระยะ early developed

B เอ็มบริโอ ระยะ more developed

C เอ็มบริโอ ระยะ more developed แบ่งเซลล์จนมีขนาดใกล้เคียงกัน

D เอ็มบริโอ ระยะ fully developed กลุ่มเซลล์ที่ผิวจัดเรียงเป็นกลุ่มเซลล์ที่มี flagella

E-G ฟองน้ำ Order Haplosclerida โดยที่;

E เอ็มบริโอ ระยะ more developed มีเซลล์ขนาดใกล้เคียงกัน

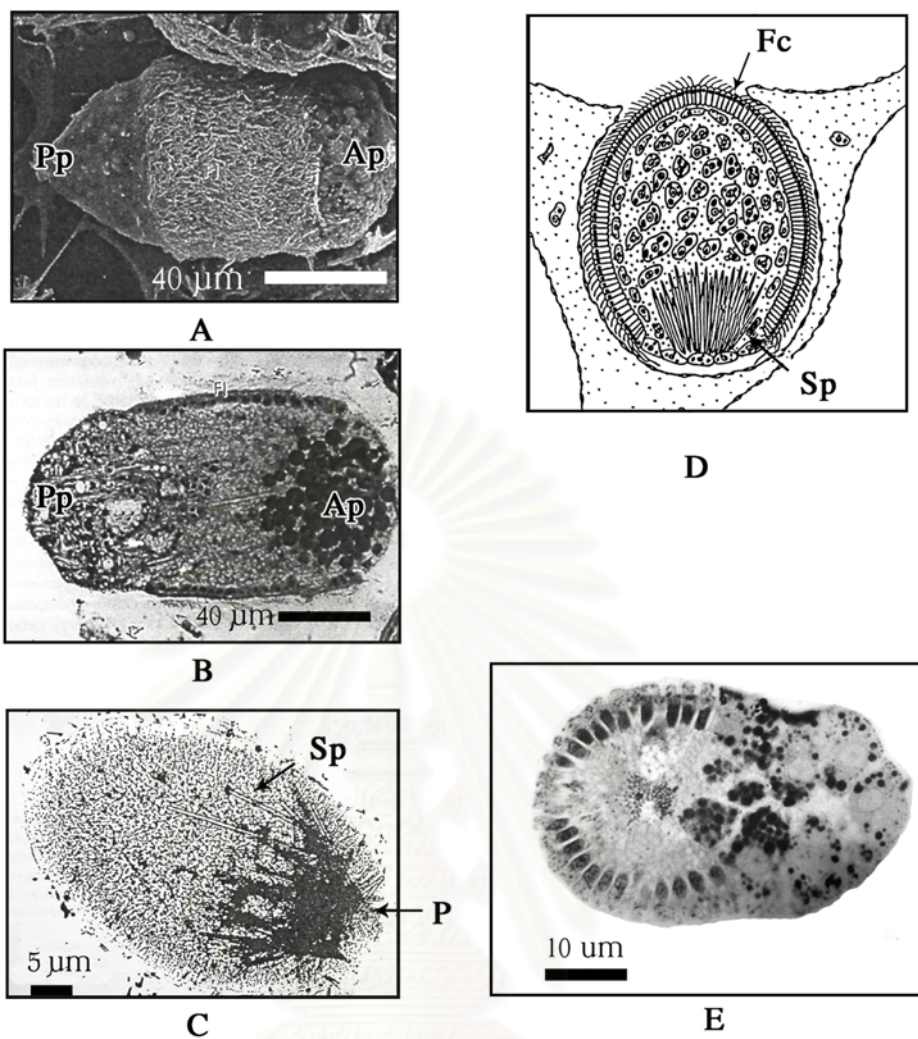
F เอ็มบริโอ ระยะ more developed เซลล์มีการสะสม pigment และเซลล์ที่ผิวเริ่มจัดเรียงตัว

G เอ็มบริโอ ระยะ more developed เซลล์ภายในมีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เช่น สร้าง spicule และ flagellated cell ที่ผิวนอก

p = pigment cells

dfc = differentiated flagellate cell

ดัดแปลงจาก Moroz and Ilan (1995) และ Ereskovskii (1999)



รูปที่ 7 ตัวอ่อน (larva) ในฟองน้ำบางชนิด

A – D ตัวอ่อนรูปแบบ Parenchymella larva โดยที่;

A และ B ตัวอ่อนของฟองน้ำ *Oopsacus minuta*

C ตัวอ่อนของฟองน้ำ *Mycale fistulifera*

D ตัวอ่อนของฟองน้ำ Order Haplosclerida

E ตัวอ่อนรูปแบบ Amphiblastula ของฟองน้ำ *Leucandra abrabsbo*

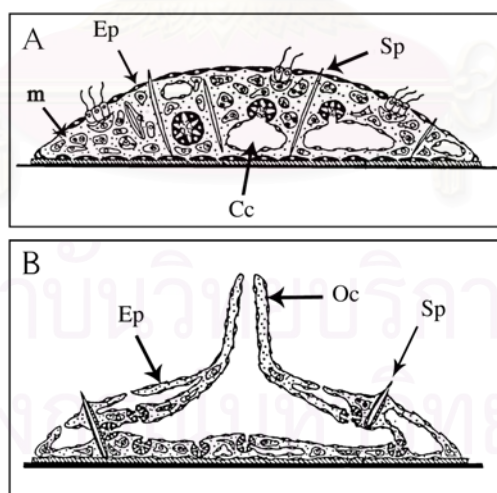
Ap = anterior pole Pp = posterior pole Sp = spicule P = pigment Fc = flagellated cells

ดัดแปลงจาก Fell (1997); Van Soest (1994); Boury-Esnault and Vacelet (1994) และ Moroz and Ilan (1995)

4.5 การเจริญของฟองน้ำหลังการลงเกาะ

จากการศึกษาการทดแทนประชากรของฟองน้ำ *Mycale fistulifera* ในช่วงปี ค.ศ.1992 – 1993 (Moroz and Ilan, 1995) พบว่าตัวอ่อนจะถูกปล่อยออกมาจากฟองน้ำตัวแม่ในช่วงเช้า ในการศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนพบว่าตัวอ่อนประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ลงเกาะอย่างรวดเร็ว ภายใน 10 ชั่วโมงหลังจากถูกปล่อยออกมาจากตัวแม่ ส่วนที่เหลือจะลงเกาะภายใน 20 ชั่วโมง ตัวอ่อนประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ที่ไม่สามารถลงเกาะได้จะตายไป ในตัวอ่อนที่สามารถลงเกาะได้พบว่าประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถอยู่รอดได้ 27-37 วันและเหลือรอดเพียง 15 เปอร์เซ็นต์หลังจาก 60 วัน การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการทดแทนประชากรของฟองน้ำพบได้ตลอดช่วงที่มีการศึกษา ขนาดโคโลนีของฟองน้ำ *Mycale fistulifera* ในธรรมชาติส่วนใหญ่มีขนาดเล็กกว่า 30 ตารางเซนติเมตร

การศึกษากการเจริญหลังการลงเกาะ (metamorphosis) ของ Ereskovskii (1999) ได้ศึกษาในฟองน้ำ Order Haplosclerida พบว่าการเจริญของฟองน้ำหลังจากลงเกาะแล้วจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ระยะแรกที่เริ่มลงเกาะ (รูปที่ 8A) ฟองน้ำเริ่มมีการสร้าง choanocyte chamber และเริ่มแบ่งเซลล์เป็นชั้นคือชั้นนอก exopinacoderm และชั้นใน mesohyl รูปที่ 8B คือระยะ Rhagon stage เป็นระยะที่มีการสร้างระบบช่องน้ำภายใน จากภาพจะเห็นมีช่องน้ำออก osculum อยู่กลางโคโลนี และเซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่ของตัวเองและขนาดของโคโลนีมีการขยายออกเพื่อสร้างระบบท่อภายในตัว



รูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลงรูปร่างหลังการลงเกาะในฟองน้ำ Order Haplosclerida จากตัวอ่อน 1 ตัว

A ฟองน้ำระยะเริ่มลงเกาะ B ฟองน้ำระยะ เริ่มสร้างท่อ (Rhagon stage)

Cc = choanocyte chamber Ep = ectopinacocyte Oc = osculum Sp = spicule

m = mesohyl

ดัดแปลงจาก Ereskovskii (1999)

5. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมและปัจจัยชีวภาพที่มีผลต่อการเติบโตและการเจริญพันธุ์ของฟองน้ำ

5.1 **อาหาร** ปริมาณแพลงก์ตอนพืช สารอินทรีย์ที่ละลายน้ำรวมไปถึงสารอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำซึ่งอยู่ในรูปสารแขวนลอยในมวลน้ำโดยปัจจัยทั้งหมดนี้ต้องมีปริมาณที่เหมาะสม (Osinga, 1999)

5.2 **ซิลิกา** ปริมาณซิลิกาซึ่งอยู่ในรูป Silicic acid (SiO_2) ในน้ำทะเลจะเป็นปัจจัยจำกัดต่อการเติบโตของฟองน้ำกลุ่มที่มีโครงสร้างของ spicules เป็นซิลิกา ซึ่งก็ได้แก่ฟองน้ำใน Class Demospongiae และในกลุ่มของฟองน้ำแก้วใน Class Hexactinellidae (Osinga, 1999) ฉะนั้นบริเวณที่มีความเข้มข้นของ SiO_2 สูงจะสามารถพบฟองน้ำที่มีขนาดใหญ่ได้มากกว่าบริเวณที่มีปริมาณ SiO_2 ต่ำ ๆ

5.3 **ออกซิเจน** ออกซิเจนมีความสำคัญต่อกระบวนการหายใจของฟองน้ำและฟองน้ำก็ต้องการปริมาณออกซิเจนสูงอยู่ตลอดเวลาจากการศึกษาของ Osinga (1999) พบว่าฟองน้ำ *Pseudosuberites aff. andrewsi* ต้องการปริมาณออกซิเจนสูงอยู่ระหว่าง 0.2 และ 25 ไมโครโมลต่อชั่วโมง

5.4 **ปริมาณแสง** ในฟองน้ำหลายชนิดมีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอาศัยอยู่ร่วมกันในทำนองเดียวกับปะการังอยู่ร่วมกับ zooxanthellae (Osinga, 1999) การศึกษาที่ Great Barrier Reef ประเทศออสเตรเลียพบว่า ปริมาณแสงที่น้อยจะส่งผลให้อัตราการเติบโตของฟองน้ำช้าลงได้ ที่ระดับความลึกมากกว่า 30 เมตร ฟองน้ำจะอาศัยอาหารที่ได้จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมากขึ้น (Wilkinson and Evans, 1989 อ้างตาม Asa, 2000)

5.5 **อุณหภูมิ** อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่เป็นตัวกำหนดการเจริญเติบโตของฟองน้ำรวมทั้งช่วงของการสืบพันธุ์ ในฟองน้ำแต่ละชนิดมีความต้องการปัจจัยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน เช่นที่จากการศึกษาของ Fell ในปี ค.ศ.1974 ที่ British Honduras และ Bahamas พบฟองน้ำ *Hippiospongia lachne* สามารถสืบพันธุ์ได้ตลอดปี ส่วนที่ Cedar Keys area พบมีการสืบพันธุ์เฉพาะในฤดูใบไม้ร่วง ช่วงอุณหภูมิที่วิกฤตสำหรับการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำชนิดนี้คือต่ำกว่า 23 องศาเซลเซียส จากการศึกษานี้ของ Levi ในปี ค.ศ.1956 (Reiswig, 1983) ในเขตอบอุ่น (Temperate) พบว่าฟองน้ำเกือบทุกชนิดจะสร้าง สปเอร์ม ในช่วงเดือนที่มีอุณหภูมิที่อุ่นกว่าปกติ เช่นพบฟองน้ำ 34 ชนิดจากฟองน้ำ 43 ชนิด มีการสร้าง สปเอร์ม เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 15.5 – 16.0 องศาเซลเซียส

5.6 **ความเค็ม** สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีความทนทานต่อความเค็มได้แตกต่างกัน ฟองน้ำส่วนใหญ่จะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงในช่วงความเค็มต่ำ จากการศึกษานี้ของ Storr ในปี

ค.ศ.1964 (Osinga, 1999) พบว่าฟองน้ำ *Hippospongia lachne* จะสามารถทนความเค็มสูงได้ถึง 46 ppt แต่จะตายในความเค็มที่ต่ำกว่า 26 ppt

5.7 การถูกกินและการถูกรุกรานโดยสิ่งมีชีวิตอื่น จากที่ฟองน้ำสามารถสร้างสารเคมีขึ้นมา ทำให้สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่เลี้ยงที่จะกินฟองน้ำเป็นอาหาร แต่มีสัตว์บางชนิดที่สามารถกินฟองน้ำเป็นอาหารได้เช่น ทากเปลือย *Peltodoris atromacula* จะกินฟองน้ำ *Petrosia* spp. และฟองน้ำ *Haliclona fulva*. (Gemballa and Schermutzki, 2004) และดาวทะเล *Henricia sanguinolenta* (O.F. Müller) จะกินฟองน้ำ *Isodictya* spp. (Shield and Witman, 1998) เป็นต้น

6. การนำฟองน้ำไปใช้ประโยชน์

การนำฟองน้ำไปใช้ประโยชน์มักใช้ในรูปแบบฟองน้ำแห้งและนำไปสกัดสารทำเป็นยารักษาโรค

6.1 ฟองน้ำฤดูตัว ปริมาณความต้องการฟองน้ำฤดูตัวเพื่อนำมาใช้เพิ่มมากขึ้นทุกวันแต่ปริมาณในธรรมชาติมีไม่เพียงพอ ในปัจจุบันได้มีการเพาะเลี้ยงขึ้นแทนที่จะเก็บจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียว แหล่งที่มีการเพาะเลี้ยงกันมากก็ได้แก่ประเทศในแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียนเลี้ยงฟองน้ำ 2 ชนิดคือ *Spongia officinalis* และ *Hippospongia communis* (Fronzato, 1999)

6.2 การสกัดสารในฟองน้ำเพื่อเป็นยารักษาโรค ฟองน้ำเป็นกลุ่มสัตว์ที่ให้สารเคมีที่เป็น secondary metabolite (ตารางที่ 3) ซึ่งมี ความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic activity) มากกว่าสัตว์กลุ่มอื่นที่ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วนแล้วมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของชนิดที่พบ ซึ่งในสัตว์ทะเลกลุ่มอื่นๆ มีค่าเพียง 2 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ส่วนในพืชบกมีค่าน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ และในกลุ่มของ microorganism ก็มีค่าน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน สารเคมีที่เป็น cytotoxic compound บางกลุ่มมีศักยภาพในการนำไปผลิตยาต้านมะเร็ง บางกลุ่มก็มีศักยภาพในการเป็นยาปฏิชีวนะ ยาต้านไวรัส ยาแก้ชักเสบ เป็นต้น ในฟองน้ำบางชนิดเช่น ฟองน้ำ *Halichondria okadae* ให้สาร Halichondrin B. ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สกัดได้เป็นครั้งแรกจากฟองน้ำ (Osinga, 1998) ซึ่งในฟองน้ำแต่ละชนิดก็ให้สารเคมีต่างชนิดกัน เช่นในฟองน้ำในกลุ่ม *Mycale* sp. เป็นฟองน้ำชนิดหนึ่งพบได้กระจายทั่วไปในเขตอินโดแปซิฟิก และให้สารสกัดที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ ขั้นตอนในการสกัดไม่ซับซ้อนสารที่สกัดได้คือสาร mycaperoxide A และ mycaperoxide B เป็นสารพวก norsesesterpine cyclic peroxide สารทั้ง 2 มีความเป็นพิษต่อเซลล์ มะเร็ง P-388, A549, HT-29 human tumor cell lines โดยมีค่า $LC_{50} = 0.5-1.0$ microgram/ml. และยังพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งไวรัส vesicular stomatitis virus และ herpes simplex virus type 1 โดยมีค่า $LC_{50} = 0.25-1.0$ microgram/ml. (คณิต สุวรรณบริรักษ์, 2545) ส่วนในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. นั้นให้สารสกัดที่ชื่อว่า Kabiramide ซึ่งมีผลต่อต้านเซลล์มะเร็งและยับยั้งการแบ่งเซลล์ของเอ็มบริโอเม่น

ทะเลใต้ Kernan (1987 อ้างตาม วนิดา เลาะศิริ และคณะ, 2537) ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ที่เก็บจากอ่าว Djibouti (Musha Archipelago) ประเทศฝรั่งเศส ให้สารเคมีกลุ่ม Bengamide และ Bengazole มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* (Fernandez, 1999.) สารเคมีที่ได้มาจากฟองน้ำนั้นได้มาจากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับฟองน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อ mesohyl และยังสามารถพบได้ในเซลล์ archaeocyte ด้วย (Boury-Esnault, 1994)

ตารางที่ 3 สารเคมีที่สกัดได้จากฟองน้ำบางชนิด

| ชนิดของฟองน้ำ | สารที่สกัดได้ (Natural products isolation) | ที่มา |
|---------------------------------|--|---|
| 1. <i>Pachastrissa</i> sp. | Bengamide , Bengazole Pachastrissamine | Fernandaz (1999) Kuroda (2002) |
| 2. <i>Phakellis fusca</i> | A-nor Sterols, alkaloids, carboxylic esters, hydrocarbons | Zhang W. et al. (2003) (ตั้งแต่หมายเลข |
| 3. <i>S. tenuis</i> | N-acyl sphingosine, saturated amide, isomalabaricane triterpenoid, 24-methylene- 27-methyl- cholesterol | 3-15) |
| 4. <i>R. Globostellata</i> | Isomalabaricane triterpenoid, 25(29) – methyl-26- ethylcholesterol, β -indole carboxylic acid | |
| 5. <i>D. Fragilis</i> | Sesquiterpine lacto, sesquiterpene, diketopiperazines furano-sesquiterpene | |
| 6. <i>S. tylobtusa</i> | Thymidine | |
| 7. <i>Tylotella</i> sp. | Cholesterol, tyramine | |
| 8. <i>Polymastia robusta</i> | 24-methylene cholestan-3 β ,6 β ,9 α , 19-tertol | |
| 9. <i>Axinyssa aplysinoides</i> | Glycerol, tyramine | |
| 10. <i>Gellius cymiformis</i> | N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-3-heptadecenyl]- pentadecanamide, epidioxy sterol-5 α , 8 α -Epi- dioxycholesta-6-en-3 β -ol | |
| 11. <i>Pachychalina</i> sp. | Sterols, 2-deoxyurdine, thymine, uracil, glycerol | |
| 12. <i>R. Pallida</i> | Steroid hormones, indole alkaloids, ten-member heterocyclic ring | |
| 13. <i>Haliclona</i> sp. | 1, 3-dimethylxanthine, alkaloids | |
| 14. <i>Aplysilla</i> sp. | Sterols | |
| 15. <i>Biemna fortis</i> | Stearic acid, sterols, 24 ζ -methylcholesta-7,22E-dien-3 β ,5 α -diol-6-one | |
| 16. <i>Mycale</i> sp. | mycaperoxide A , mycaperoxide B (norsesterterpine cyclic peroxide) | คณิต สุวรรณบริรักษ์ (2545) |

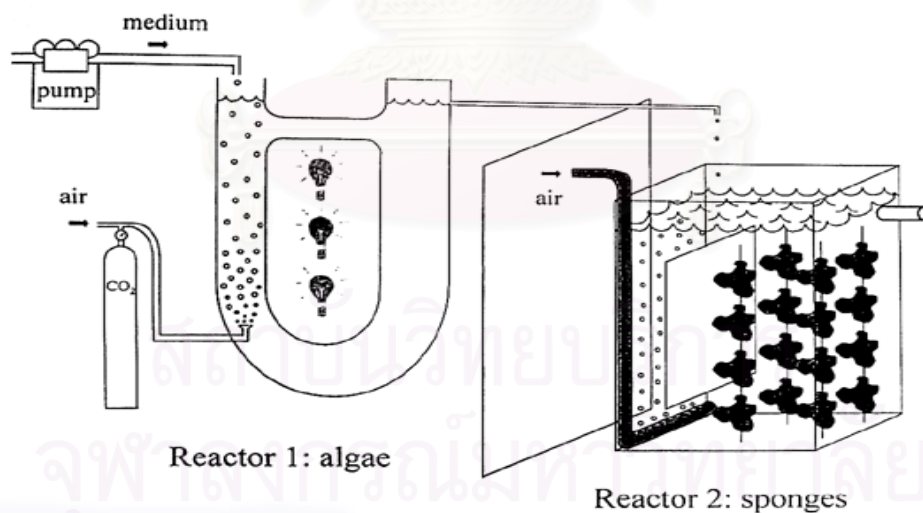
7. สถานภาพการเพาะเลี้ยงฟองน้ำ

ฟองน้ำบางชนิดได้รับความสนใจมาตั้งแต่สมัยกรีกโบราณโดยเฉพาะกลุ่มของฟองน้ำ
 กล้วย มีการใช้ประโยชน์จากฟองน้ำจำนวนมาก ทำให้ที่ปริมาณฟองน้ำในธรรมชาติลดลง ดังนั้นจึง
 มีความพยายามในการผลิตฟองน้ำเพื่อนำมาใช้และทำเป็นธุรกิจเริ่มตั้งแต่ศตวรรษที่ 19 โดยเฉพาะ
 ทดลองการเพาะเลี้ยงฟองน้ำกล้วย (Spongillidae) ในธรรมชาติ ซึ่งได้มีการพัฒนารูปแบบมาตลอด ใน
 ปัจจุบันที่ประเทศนิวซีแลนด์ได้มีการเพาะเลี้ยงฟองน้ำเพื่อนำไปผลิตสารเคมี ที่เป็น Secondary
 metabolite (Osinga, 1998) Barthel and Theede (1986 อ้างถึงใน Osinga, 1998) ประสบ
 ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงฟองน้ำ *Halichondria panacea* ในระบบกึ่งปิดที่ควบคุมอุณหภูมิและมี
 ระบบน้ำทะเลที่ไม่ผ่านการกรองไหลผ่านตลอดและมีการให้อาหารเป็น สาหร่าย *Chlorella* sp. ซึ่ง
 ปริมาณสาหร่ายมีผลต่อการเติบโตของฟองน้ำเช่นเดียวกับการทดลองของ Poirrior ในปี ค.ศ.1981
 (Osinga, 1998) พบว่าอัตราการเติบโตของฟองน้ำจืด *Euphydatia fluviatilis* และ *Sponfilla alba*
 ขึ้นกับปริมาณแบคทีเรีย *Escherichia coli* ที่ให้เป็นอาหาร

7.1 การเลี้ยงฟองน้ำในระบบปิด

ในธรรมชาติฟองน้ำสามารถกรองกินอาหารได้อย่างเพียงพอและไม่มีการ
 สะสมของเสีย ซึ่งเมื่อนำฟองน้ำมาเลี้ยงในระบบปิดสิ่งที่ต้องคำนึงถึงเป็นอันดับแรกก็คือการหมุนเวียน
 น้ำและปริมาณอาหาร รวมทั้งการขบถ่ายของเสีย ที่อยู่ในรูปของแอมโมเนีย ไนเตรทและไนไตรท์ ซึ่งถ้า
 ไม่มีการจัดการที่ดีพอก็จะมีสารสะสมอยู่ในบ่อเลี้ยงและก็จะพิษต่อของฟองน้ำทำให้การ
 เติบโตของฟองน้ำในระบบปิดเติบโตต่ำกว่าอัตราที่พบในธรรมชาติ (Osinga, 1998) ปัญหาที่สำคัญ
 ประการหนึ่งในการเลี้ยงฟองน้ำในระบบปิดคือ ปริมาณอาหารที่ไม่เพียงพอ เนื่องจากฟองน้ำเป็นสัตว์ที่
 กรองกินอาหารจากมวลน้ำแบบไม่เลือกชนิดของอาหาร ซึ่งอาหารที่กรองได้นั้นก็มาจากสิ่งมีชีวิตหลาย
 ชนิดทั้งแพลงก์ตอน และแบคทีเรียที่มีชีวิตและที่ตายแล้วรวมถึงสารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ในน้ำและ
 สารอินทรีย์ที่แขวนลอยอยู่ในมวลน้ำ ซึ่งในการจัดการการเลี้ยงเพื่อให้มีอาหารหลากหลาย และมี
 สัดส่วนปริมาณให้เหมือนกับในธรรมชาตินั้นยากมาก Fry ในปีค.ศ. 1971 (Osinga, 1998) ได้ทำการ
 เลี้ยงฟองน้ำ *Ophlitaspongia scleriata* ในระบบปิดได้ในระยะยาว โดยการผสมสาหร่าย 4 ชนิดที่มี
 ขนาดที่แตกต่างกันรวมทั้งผสมแบคทีเรียที่ตายแล้วทั้งที่ยังคงรูปเซลล์และเซลล์ที่เสียรูปจากการ
 แตกหัก ส่วน Osinga เองนั้นสามารถเลี้ยงฟองน้ำ 2 ชนิดในหลอดทดลองได้นานกว่า 1 ปี คือฟองน้ำ
Paeudosuberites andrewsi โดยให้อาหารผสมสองชนิดคือ *Chlorella vulgaris* และ *Dunaliella* sp.
 และอีกชนิดที่เขาทดลองคือ ฟองน้ำ *Cliona celata* ให้อาหารเป็น *Chlorella vulgaris* เพียงชนิดเดียว
 นอกจากนี้ปัจจัยเรื่องอาหารที่มีผลต่อการเติบโตของฟองน้ำแล้วพบว่า ปริมาณ Silica ก็มีผลต่อการ

เติบโตและการเลี้ยงของฟองน้ำเช่นกัน ฟองน้ำในธรรมชาติมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ มี spicules เป็นซิลิกาซึ่งเมื่อคำนวณองค์ประกอบของปริมาณซิลิกาในมวลชีวภาพของฟองน้ำจะมีสัดส่วนสูงมาก Desqueyrouz-Fernandez ในปี ค.ศ. 1990 (อ้างตาม Osinga, 1998) พบว่าฟองน้ำใน Order Haplosclerida มีน้ำหนักของซิลิการ้อยละ 62.3 ของน้ำหนักแห้งทั้งหมด และในฟองน้ำ Petrosiida มีน้ำหนักของ Silica มากถึงร้อยละ 74.9 ของน้ำหนักแห้ง ซิลิกาจึงเป็นปัจจัยจำกัดอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเติบโตของฟองน้ำในระบบปิด แต่จากการศึกษาก็สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้โดยการเติม $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Si}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ซึ่งมีซิลิกาเป็นองค์ประกอบลงไปในน้ำที่เลี้ยงฟองน้ำเพื่อเพิ่มปริมาณซิลิกาที่ถูกใช้ไปแล้ว ส่วนอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเติบโตของฟองน้ำก็คือปริมาณออกซิเจนโดยปกติในธรรมชาติจะมีปริมาณออกซิเจนค่อนข้างสูงเนื่องจากมีการไหลเวียนของน้ำอยู่ตลอดเวลา ในการจะนำฟองน้ำมาเลี้ยงในระบบปิดก็ต้องมีการปรับสภาพให้เหมือนกับในธรรมชาติให้มากที่สุดคือต้องมีการเพิ่มออกซิเจนให้กับระบบเลี้ยง จากการศึกษาของ Osinga ในปี 1999 ได้ออกแบบการเลี้ยงแบบระบบปิด (รูปที่ 9) โดยแบ่งเป็น 2 ส่วนก็คือส่วนแรกเป็นส่วนของการเตรียมระบบหมุนเวียนน้ำและอาหาร ส่วนที่สองเป็นส่วนของบ่อเลี้ยง โดยในส่วนแรกมีการเตรียมน้ำทะเล มีการเลี้ยงสาหร่าย และให้คาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายโดยสาหร่ายจะถูกส่งผ่านท่อลงมาในส่วนที่สองซึ่งเป็นบ่อเลี้ยงฟองน้ำ ในบ่อเลี้ยงฟองน้ำจะมีฟองน้ำแขวนในแนวตั้งและมีการให้อากาศเป็นออกซิเจนในบ่อเลี้ยง (Osinga, 1999)



รูปที่ 9 การเลี้ยงฟองน้ำในระบบปิด

Reactor 1 เป็นระบบการเตรียมน้ำและอาหารสำหรับเลี้ยงฟองน้ำ

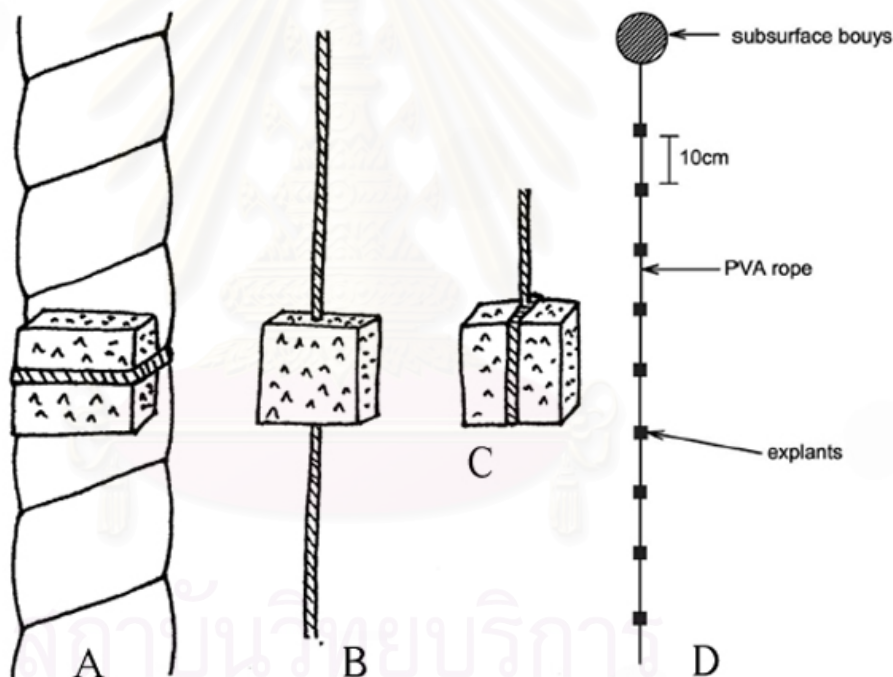
Reactor 2 เป็นบ่อเลี้ยงฟองน้ำ

(Osinga, 1999)

7.2 การเลี้ยงฟองน้ำในธรรมชาติ

การเลี้ยงฟองน้ำในธรรมชาติประสบความสำเร็จดีกว่าการเลี้ยงในระบบปิด เนื่องจากการเลี้ยงฟองน้ำในธรรมชาติไม่ต้องให้อาหาร ไม่มีการสะสมของเสียในระบบเลี้ยง และประหยัดค่าใช้จ่ายในการสร้างระบบเลี้ยง Duckworth (2003) การศึกษาการเลี้ยงฟองน้ำในธรรมชาติในประเทศนิวซีแลนด์สามารถแบ่งรูปแบบการเลี้ยงเป็นสองแบบคือ

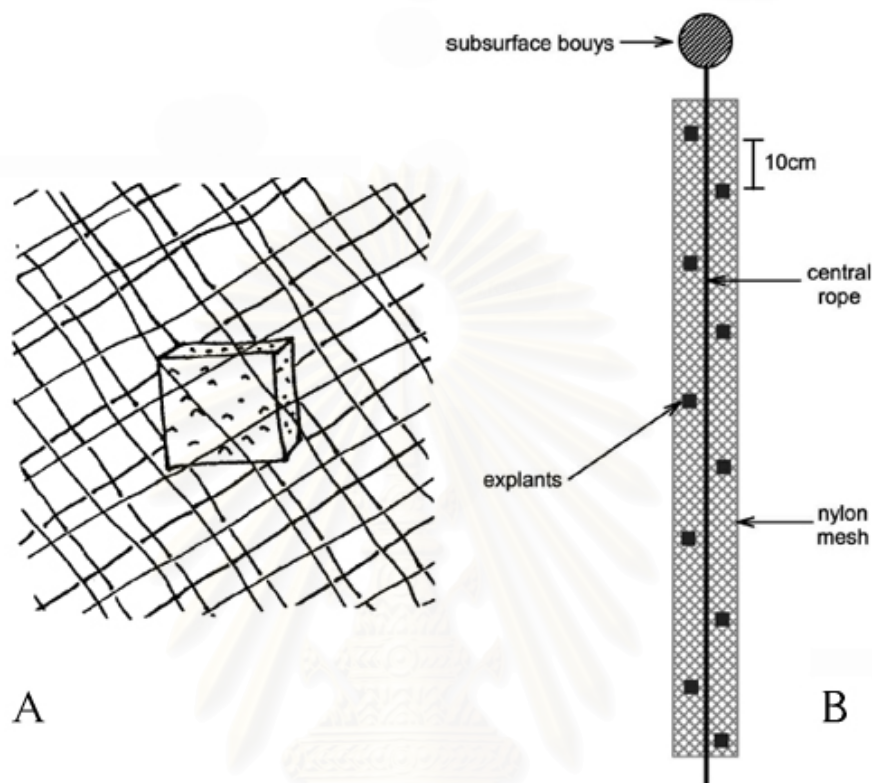
- **Rope method** เป็นการเลี้ยงโดยการนำเนื้อเยื่อฟองน้ำมาติดกับเชือกที่ทำจากวัสดุหลายชนิดทั้งเชือกที่ทำจากธรรมชาติและจากวัสดุสังเคราะห์ ด้วยวิธีต่าง ๆ เช่นการมัดโคโลนีฟองน้ำกับเชือกขนาดใหญ่ (รูปที่ 10A) ร้อยโคโลนีฟองน้ำด้วยเชือกขนาดเล็ก (รูปที่ 10B) ใช้เชือกมัดรอบโคโลนีฟองน้ำ (รูปที่ 10C) พบว่าวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการเลี้ยงฟองน้ำคือ ใช้เชือกที่ทำมาจากวัสดุสังเคราะห์ (Polyvinyl alcohol) และวิธีการเลี้ยงคือแบบที่ร้อยฟองน้ำไว้ด้วยเชือกเส้นเล็ก



รูปที่ 10 การเลี้ยงฟองน้ำด้วยวิธี rope และ rope array A การมัดโคโลนีกับเชือกขนาดใหญ่
B การร้อยโคโลนีฟองน้ำด้วยเชือกขนาดเล็ก C การใช้เชือกมัดโคโลนี และ
D วิธีการเลี้ยงแบบ rope array (Duckworth, 2003)

-**Mesh method** (รูปที่ 11A) เป็นการเลี้ยงโดยใส่ฟองน้ำในถุงตาข่ายที่มีขนาดความกว้างของตาข่ายแตกต่างกัน และขนาดเส้นของตาข่ายก็แตกต่างกัน พบว่าในถุงตาข่ายที่เลี้ยงฟองน้ำ โคโลนีเดียวต่อถุง มีความกว้างของขนาดตาข่ายกว้าง และขนาดของเส้นตาข่ายมีขนาด

เด็กจะมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด รูปแบบการแขวนในธรรมชาติดูได้จาก รูปที่ 11B โดยด้านบนจะเป็น ทุ่น ลอยอยู่เหนือน้ำแล้วผูกติดกับเชือกที่มีฟองน้ำยึดติดอยู่ ระยะห่างระหว่างก้อนฟองน้ำ 10 เซนติเมตร (Duckworth, 2003)

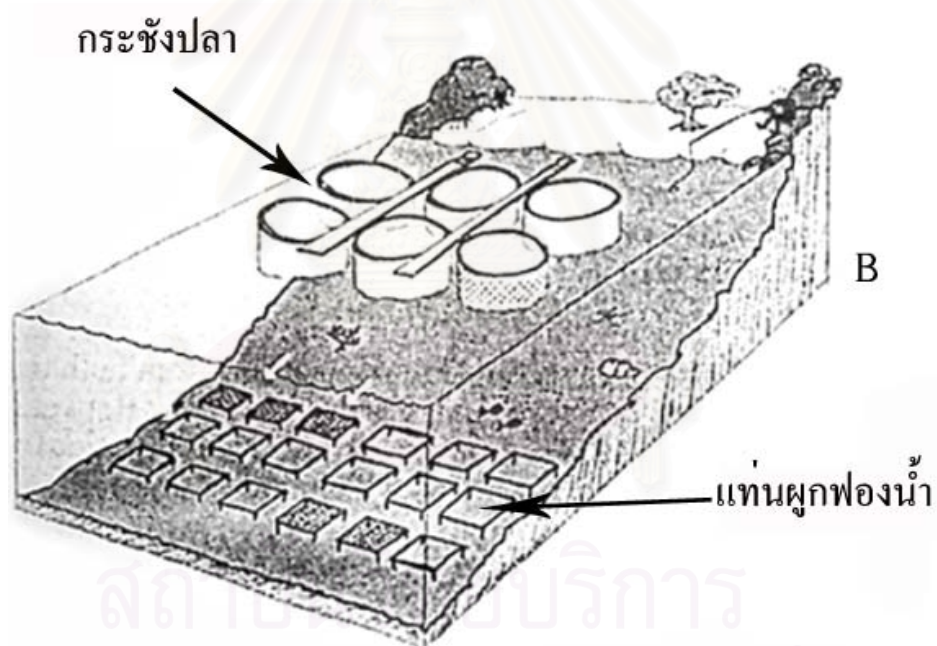


รูปที่ 11 การเลี้ยงฟองน้ำด้วยวิธี mesh A และ mesh array B (Duckworth, 2003)

-การเลี้ยงแบบผูกแพ (รูปที่ 12A) จากการศึกษาของ Fronzato (1999) ทดลองเลี้ยงฟองน้ำตัวหลายชนิดในทะเลเมดิเตอร์เรเนียนประเทศกรีซ เช่นฟองน้ำ *Spongia officinalis* ฟองน้ำ *Hippospongia communis* และฟองน้ำ *Ircinia variabilis* โดยทำการร้อยโคโคโนี ฟองน้ำเป็นแถวแล้วผูกเรียงกัน ยึดติดกับแท่นที่วางบนพื้นท้องทะเลที่มีความลึก 15 เมตรในเขตน้ำขึ้นน้ำลง เลี้ยงห่างจากกระชังเลี้ยงปลาประมาณ 200-500 เมตร (รูปที่ 12B) เพื่อให้อาหารที่เหลือจากการให้ ปลารวมทั้ง particle และสารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่ได้จากกระชังปลา เป็นอาหารของฟองน้ำ พบว่าฟองน้ำ *Hippospongia communis* มีอัตราการรอดสูงสุดเท่ากับ 100 % ในเวลาการเลี้ยง 2 เดือน ส่วน ฟองน้ำกลุ่มอื่นเลี้ยงมีอัตราการเติบโตดีโดยมีอัตราการรอดเฉลี่ยประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์



A



รูปที่ 12 การเลี้ยงฟองน้ำแบบตุ๊กแพ
ดัดแปลงจาก Fronzato (1999)

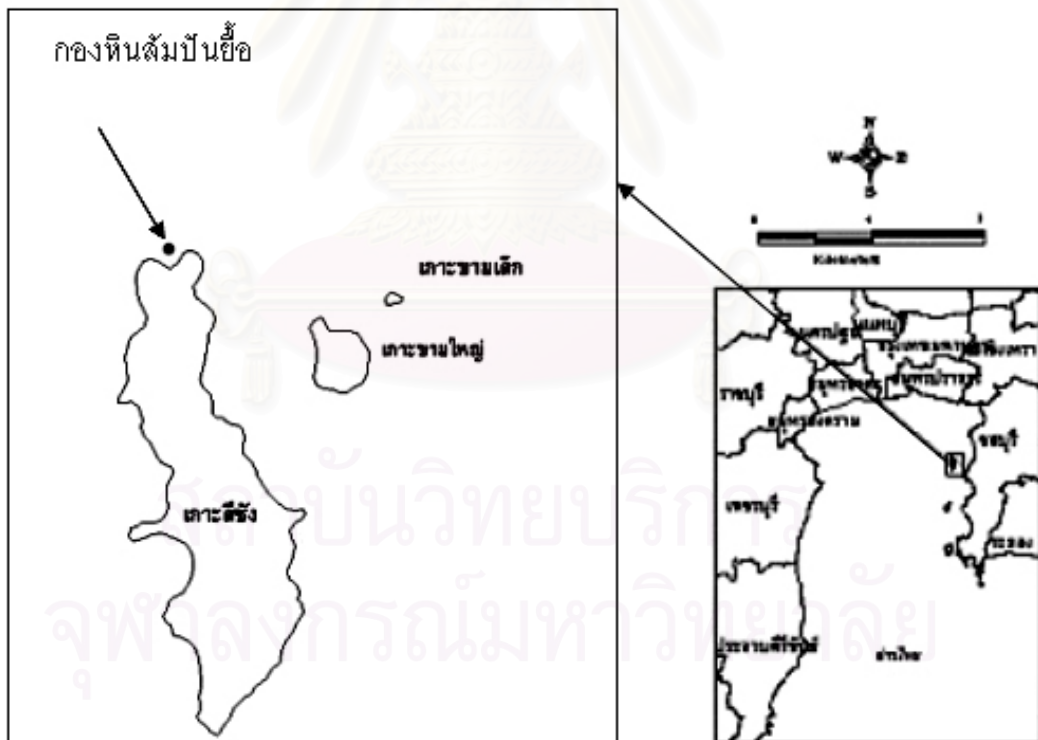
บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการศึกษา

การศึกษาในภาคสนาม

1. สถานที่ศึกษา

กองหินสัมปันย้อย (รูปที่ 13, 14) เป็นเกาะบริวารของเกาะสีชัง ตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะสีชัง อำเภอเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี พิกัด $13^{\circ}11.3' N$ และ $100^{\circ}48.12'E$ จุดเก็บตัวอย่างอยู่บริเวณด้านทิศตะวันตกของกองหินสัมปันย้อย ความลึกประมาณ 6 – 7 เมตร ลักษณะทั่วไปของพื้นที่ท้องทะเลบริเวณจุดเก็บตัวอย่างเป็นหินปูน มีสิ่งมีชีวิตที่อยู่อาศัยแบบเกาะติดกับพื้น เช่น ปะการังก้อน ปะการังกิ่ง ปะการังอ่อน พรหมทะเล และฟองน้ำ เป็นต้น



รูปที่ 13 กองหินสัมปันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี

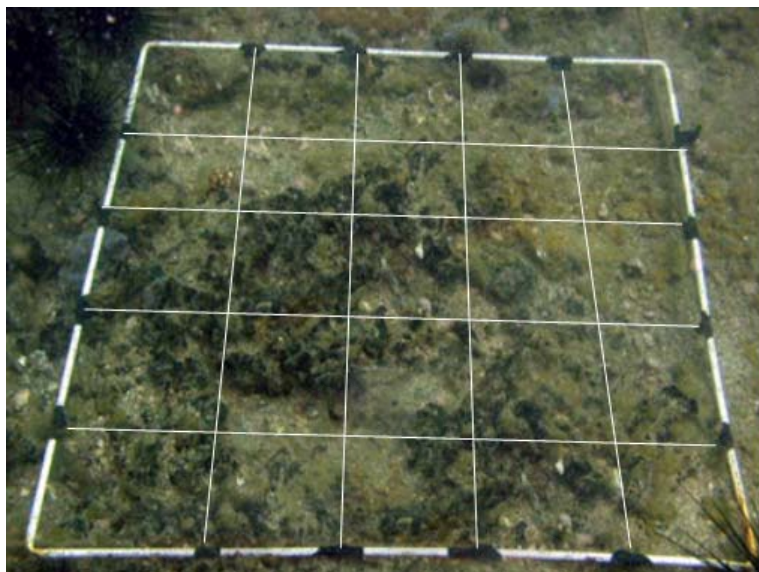


รูปที่ 14 กองหินสัมปันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี

2. การศึกษาการกระจายและการเติบโตของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในธรรมชาติ

ศึกษาลักษณะการกระจายและการเติบโตของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. โดยตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำชนิดนี้ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 สุ่มพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. โดยใช้อุปกรณ์ดำน้ำลึก (Scuba diving equipment) ในการสำรวจใน permanent quadrat ขนาด 50 x 50 เซนติเมตร ยึด quadrat ด้วยเชือกไนลอนในบริเวณโคโลนีของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ที่ไม่มี competition กับสิ่งมีชีวิตอื่น จำนวน 5 quadrat รอบโคโลนีของฟองน้ำ ตามวิธีของ Asa (2000) ในขณะที่วัดพื้นที่ใช้ quadrat ขนาด 50 x 50 เซนติเมตรที่มีการตีตารางด้วยเอ็นตักปลาเป็นช่องขนาด 10 x 10 เซนติเมตรไว้ (รูปที่ 15) แล้ววาดพื้นที่ปกคลุมลงบนกระดาษกั้นน้ำ

การวิเคราะห์พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในแต่ละเดือนในธรรมชาติทำโดยการวาดพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในแต่ละ quadrat แต่ละเดือนนำพื้นที่ปกคลุมที่ได้มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ปกคลุมต่อพื้นที่ทั้งหมดโดยใช้โปรแกรม Envi version 3.4 (ซึ่งเป็นโปรแกรมคำนวณพื้นที่ภาพถ่ายดาวเทียม นำมาประยุกต์ใช้โดยใช้หลักการคำนวณความแตกต่างระหว่างสีขาวยกกับสีดำนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์) หลังจากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยรวม 5 quadrat ตลอดช่วงการศึกษา 13 เดือน นำผลที่ได้ไปหาค่าความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมและจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ที่พบในแต่ละเดือน



รูปที่ 15 การหาพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในธรรมชาติ โดยใช้ตารางสี่เหลี่ยม quadrat ขนาด 50 X 50 ซม.

การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติทำโดยเก็บข้อมูลทั่วไป สภาพอากาศ คลื่นลม อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณน้ำฝน ปริมาณแพลงก์ตอนพืช ทั้งเก็บโดยตัวผู้วิจัยเองและข้อมูลจากกรมอุตุนิยมวิทยาและจากสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึคนิสิต เกาะสีชัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปัจจัยที่ทำการตรวจวัดโดยผู้วิจัยเองได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ (SCT meter model YSI30) และปริมาณออกซิเจนละลาย (DO meter model YSI55) (รูปที่ 16)



รูปที่ 16 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ ความเค็ม และปริมาณออกซิเจนละลาย

3. การศึกษาการเจริญพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

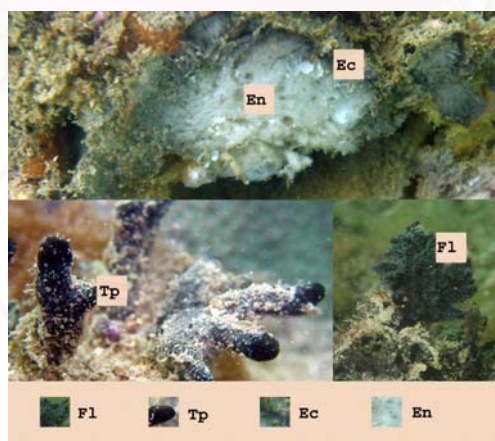
ศึกษาการเจริญพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. โดยเก็บตัวอย่างจากธรรมชาติบริเวณใกล้เคียง รอบตารางสี่เหลี่ยม (quadrat) ถาวรที่สร้างไว้ เพื่อนำมาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการโดยแบ่งเป็นสองส่วนคือการศึกษาด้วยวิธีการตัด paraffin section และวิธี cytospin วิธีการตัด paraffin section เป็นการศึกษาเนื้อเยื่อที่ผ่านการ fixed ด้วยน้ำยา fixative ส่วนวิธี cytospin เป็นการศึกษาเซลล์ที่ถูกแยกเป็นเซลล์เดี่ยว โดยการนำตัวอย่างมีชีวิตมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในห้องปฏิบัติการ

- การศึกษาเนื้อเยื่อฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ด้วยวิธีการตัด paraffin section

ศึกษาที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยาการเจริญ ห้อง 223 และ 224 ชั้น 2 ตึกกลุ่มวิชาโอบลภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2546 – มิถุนายน 2547 แบ่งเป็นขั้นตอนการศึกษาได้ดังนี้

1. ขั้นตอนการสุ่มเก็บเนื้อเยื่อฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. โดยตัดชิ้นเนื้อเยื่อที่มาจากต่างโคโลนีและแต่ละส่วนของเนื้อเยื่อฟองน้ำ (รูปที่ 17) โดยแบ่งเนื้อเยื่อฟองน้ำออกเป็น 4 ส่วนคือส่วนที่มีลักษณะเป็นพู่คล้ายดอกไม้ (Fl) ส่วนของโคโลนีที่ยื่นออกมา (Tp) ส่วนของเนื้อเยื่อตั้งแต่ผิวเข้าไป 0.5 ซม. และ (Ec) ส่วนของเนื้อเยื่อด้านในสีขาว (En) ตัดแต่งชิ้นเนื้อเยื่อให้เป็นชิ้นขนาดไม่เกิน 0.5 x 0.5 เซนติเมตรเพื่อนำน้ำยา fixative ซึมได้ทั่วถึงและ fixed ในน้ำยา Bouin's fixative เป็นเวลา 24 ชม. เมื่อครบเวลาเปลี่ยนเป็น 70% Ethyl Alcohol ล้างด้วย 70% Ethyl Alcohol จนหมดสีเหลืองและเก็บรักษาไว้ใน 70% Ethyl Alcohol (รูปที่ 18A) (Willey, 1971)



รูปที่ 17 ตำแหน่งเนื้อเยื่อฟองน้ำ *Pachastrissa* sp ที่นำมาศึกษาด้วยวิธีตัด paraffin section และวิธี cytospin

Fl = Flower part Tp = Tip part Ec = Ectosomal Skeleton part En = Endosomal Skeleton part

2. ขั้นตอนการทำ Paraffin section

- Dehydration นำชิ้นเนื้อเยื่อที่เก็บใน 70% Ethyl alcohol (รูปที่ 18A) แต่ละส่วนของเนื้อเยื่อส่วนละ 3 ชิ้นต่อเดือนมาผ่านขั้นตอนการเตรียมการสำหรับการทำ paraffin section โดยผ่านกระบวนการดื่มน้ำออกจากชิ้นเนื้อเยื่อด้วยการถ่ายผ่าน Ethyl alcohol ที่มีเปอร์เซ็นต์ที่สูงขึ้นตามลำดับ (dehydration) ต่อมาผ่านกระบวนการ clearing โดยใช้ xylene

- Infiltration เป็นกระบวนการที่ทำให้ paraffin ที่หลอมเหลว (รูปที่ 18B) ซึ่งขั้นตอนนี้ใช้ Paraplast (ยี่ห้อ Sherwood Medical) แทรกเข้าไปแทนที่ xylene ในเนื้อเยื่อโดยการย้ายเนื้อเยื่อใส่ใน Paraplast ที่หลอมเหลว (อุณหภูมิไม่เกิน 62 องศาเซลเซียส) 3 ลำดับขั้น และเพื่อช่วยให้ Paraplast แทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ดีขึ้นจึงใช้ suction pump (ยี่ห้อ GAST model No.0211-U45F G230CX) ร่วมกับตู้ควบคุมอุณหภูมิ (ยี่ห้อ NACO model 5810) (รูปที่ 18C) ช่วยในระหว่างการ incubate ใน Paraplast

- Embedding นำชิ้นเนื้อเยื่อฝังใน Paraplast ขณะหลอมเหลว เมื่อ Paraplast แข็งตัว นำมาตัดแต่งให้เหมาะสม (Trimming) (รูปที่ 18D) สำหรับการนำไปติดบนแท่นเพื่อเตรียมการตัดด้วย microtome

- Sectioning ตัดชิ้นเนื้อเยื่อใน Paraplast block ด้วย microtome (ยี่ห้อ American Optical Company Model 815 SER. No. 14026) (รูปที่ 18E) ความหนา 6 μm . นำ section ที่ตัดได้ติดบนสไลด์ที่เคลือบด้วย gelatin แล้วอุ้งบนภาตอุ้งสไลด์อุณหภูมิ ไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-8 ชั่วโมง เพื่อให้เนื้อเยื่อติดแน่นบนสไลด์ (รูปที่ 18G)

- Staining ขั้นตอนการย้อมสีเนื้อเยื่อแบ่งเป็นขั้นตอนย่อยคือ

- Dewax การทำให้ Paraplast ละลายออกจากเนื้อเยื่อฟองน้ำโดยแช่สไลด์ใน xylene 2 ลำดับขั้น

- Rehydrate เป็นขั้นตอนเพิ่มน้ำเข้าไปในเนื้อเยื่อ โดยการถ่ายผ่าน Ethyl alcohol ที่ความเข้มข้นลดลง จนถึงน้ำ (รูปที่ 18H)

- Stain ด้วยสี Hematoxylin & Eosin (รูปที่ 18I)

- Dehydration การดื่มน้ำออกจากเนื้อเยื่อ โดยการถ่ายผ่าน Ethyl alcohol ที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น

- Clear ใน xylene

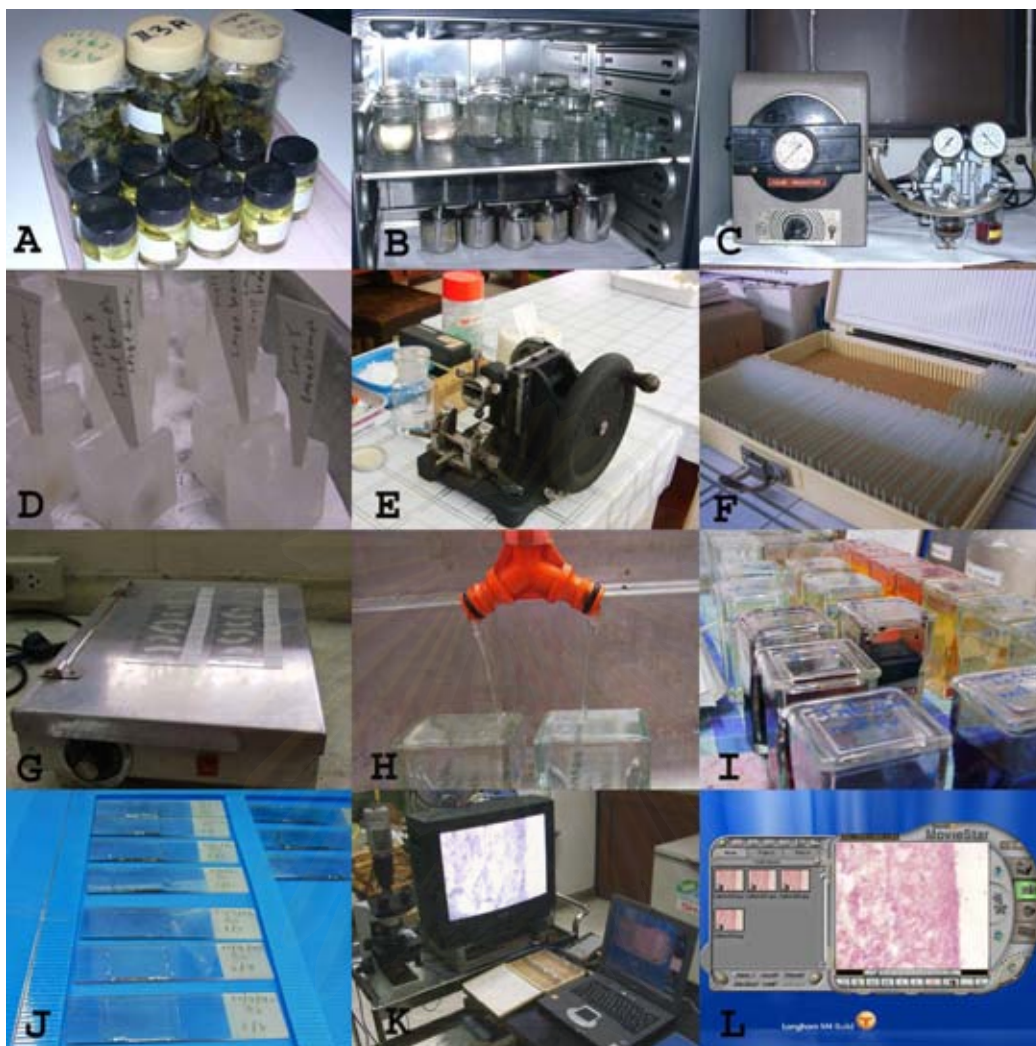
- Mount ด้วย Permount และปิดด้วย cover slip (รูปที่ 18J)
เนื้อเยื่อ 1 ชิ้นสามารถตัด sections และติดบนสไลด์ได้ประมาณ 10 – 15 สไลด์

3. ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ และบันทึกภาพ (รูปที่ 18K) (Willey, 1971 และ Ereskovsky, 2000)

วิเคราะห์เนื้อเยื่อของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จําแนกชนิดของเซลล์ที่พบตามตำแหน่งและการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อในสภาพธรรมชาติ ถ่ายภาพ ด้วยชุดอุปกรณ์ถ่ายภาพและบันทึกภาพลงในคอมพิวเตอร์ วิเคราะห์รูปร่างลักษณะของเซลล์ องค์ประกอบภายในเซลล์ วัดขนาดเซลล์ โดยการเปรียบเทียบกับผลการศึกษที่ผ่านมาแล้ว



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 18 ขั้นตอนการศึกษาเนื้อเยื่อฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ด้วยวิธีตัด paraffin section

A ชิ้นเนื้อเยื่อที่เก็บใน 70% Ethyl alcohol

B ตู้หลอม paraffin

C ตู้ควบคุมอุณหภูมิ กับ suction pump

D ชิ้นเนื้อเยื่อที่จะนำมาตัดแต่งให้เหมาะสม (trimming) สำหรับนำไปติดบนแท่นเพื่อเตรียมการตัดด้วย microtome

E เครื่อง microtome สำหรับตัด section

F กระดาษสไลด์สำหรับติดเนื้อเยื่อที่ผ่านการตัด section

G ถาดอุ่นสไลด์

H-I ขั้นตอนการย้อมสี Hematoxylin & Eosin

J สไลด์ที่ผ่านกระบวนการย้อมสีและ mount เสร็จเรียบร้อยแล้ว

K-L ชุดอุปกรณ์ถ่ายภาพประกอบด้วย กล้องจุลทรรศน์ Olympus Model. CH30RF200 กล้องวิดีโอดิจิทัล สี Sony Model.No.SSC-DC58AP จอมอนิเตอร์ Sony Model KV-G21P2 อุปกรณ์แปลงสัญญาณจากอนาลอกเป็นดิจิทัล Dazzle* multimedia DVC-USB Model. SN: DVCUSB2 102422 โปรแกรมตัดต่อภาพจากกล้องบันทึกภาพ Dazzle* Moviestar Version 4.24 ซึ่งอุปกรณ์ทั้งหมดต่อพ่วงเข้ากับคอมพิวเตอร์ Acer TravelMate 290 Model. 290FXCi

- การศึกษาเซลล์ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ด้วยวิธี cytospin

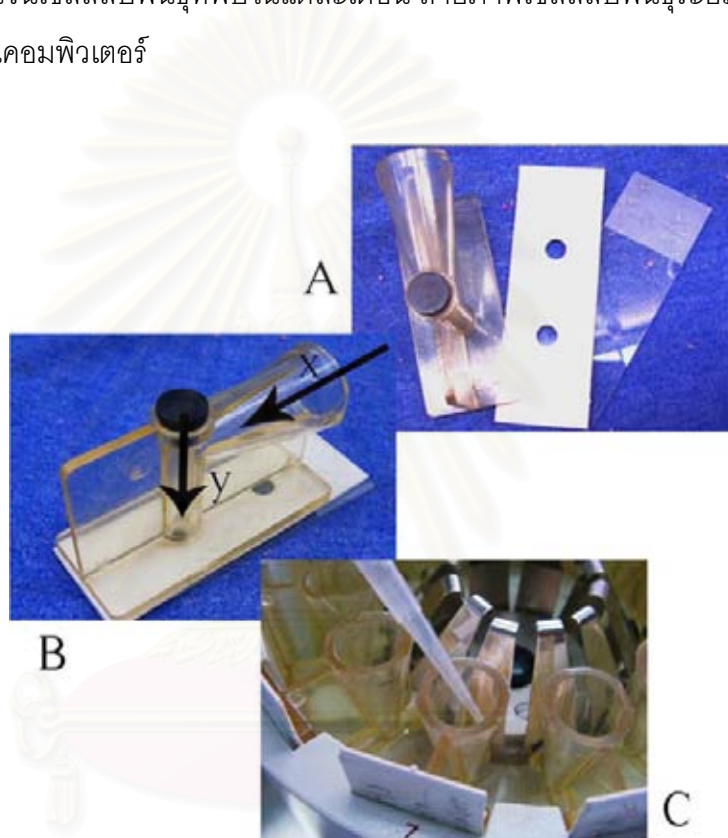
ศึกษาที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยาการเจริญ ห้อง 223 และ 224 ชั้น 2 ตึกกลุ่มวิชาโอบอล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2546 – มิถุนายน 2547

เก็บตัวอย่างฟองน้ำมีชีวิตมาจากกองหินสัมปณีย้อ เกาะสีชัง โดยแยกแต่ละส่วนของเนื้อเยื่อ เช่นเดียวกับการศึกษาด้วยวิธีการตัด paraffin sections โดยเก็บเนื้อเยื่อทั้ง 4 ส่วน ส่วนละ 3 ชิ้น เนื้อเยื่อโดยใส่กล่องเก็บตัวอย่างที่มีการให้อากาศโดยใช้เครื่องปั๊มอากาศ (Air pump แบบใช้แบตเตอรี่) ตลอดการเดินทางจากเกาะสีชังมาถึงห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล มาถึงห้องปฏิบัติการนำมาพักไว้ในตู้น้ำเค็มความเค็ม 32 psu. ขนาดความจุประมาณ 100 ลิตร มีการให้อากาศโดยใช้เครื่องปั๊มอากาศ และให้อาหารเป็นสาหร่ายเซลล์เดียว *Tetracelmis* sp. ตลอดช่วงที่ศึกษา เนื่องจากมีขนาดประมาณ 10 μm . ซึ่งเล็กกว่าความกว้างของช่องน้ำเข้า (ostium) ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ที่มีความกว้างของช่องน้ำเข้า (ostium) ประมาณ 50 μm .

วัตถุประสงค์ของการศึกษาดังวิธี cytospin คือต้องการแยกเซลล์ออกมาจากเนื้อเยื่อ ให้เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เพื่อศึกษาลักษณะและองค์ประกอบภายในเซลล์ของเซลล์ที่ต้องการศึกษา โดยไม่มีเนื้อเยื่อหรือ spicule มาบดบัง ระบบการทำงานของเครื่อง cytospin เริ่มจากอุปกรณ์ 3 ชิ้นคือ กรวยกระดาษแข็งและกระจกสไลด์ (รูปที่ 19A) เรียงซ้อนกันตามลำดับ (รูปที่ 19B) การทำงานเริ่มจากใช้ Autopipet ดูดน้ำที่มี cell suspension อยู่ในกรวย ตามทิศทางของลูกศร x (รูปที่ 19B และ 19C) เมื่อเปิดเครื่อง แกนของเครื่อง cytospin จะหมุนทำให้เกิดแรงเหวี่ยงทำให้ cell suspension เคลื่อนที่ตามทิศทางลูกศร y เซลล์ของฟองน้ำจะติดบนสไลด์ที่เคลือบด้วย gelatin ขอบเขตเท่ากับช่องที่เจาะบนกระดาษ ส่วนน้ำจะถูกขับไว้โดยกระดาษแข็ง

วิธีการศึกษาโดยการตัดแต่งเนื้อเยื่อฟองน้ำ (รูปที่ 20A) ให้ได้ขนาดประมาณ 0.5x0.5 ซม. นำมาขยี้ผ่านตาข่ายไนลอนขนาดตาข่ายประมาณ 500 μm . (รูปที่ 20B-E) ล้างด้วยน้ำทะเลเทียมความเข้มข้น 32 psu. (รูปที่ 20F) ใช้หลอดหยดดูดน้ำทะเลที่มีเซลล์ฟองน้ำอยู่ในหลอด appendoff ขนาด 1.5 ml. (รูปที่ 20G) นำหลอด appendoff บั่นโดยใช้เครื่อง Vortex Genie 2 เพื่อปั่นให้เซลล์กระจายทั่วหลอดแล้วใช้ Autopipet ดูดน้ำที่มีเซลล์ฟองน้ำอยู่ในเครื่อง cytospin SHANDON ช่องละ 50 μm . (รูปที่ 20H-J) เปิดเครื่อง cytospin ที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที (รูปที่ 20K-M) ปิดเครื่อง นำสไลด์ออกมาจากเครื่อง แล้ว fixed เซลล์ด้วย Bouin's fixative 5 นาที (รูปที่ 20N-O) ย้อมสี Hematoxylin & Eosin (รูปที่ 20P-Q) Mount ด้วย Permount ปิดด้วย coverslip (รูปที่ 20R) ถ่ายภาพด้วยชุดอุปกรณ์ต่อพ่วงกับคอมพิวเตอร์

การวิเคราะห์เซลล์สีบัพันธุ์และเซลล์ชนิดอื่นของฟองน้ำจากการศึกษาด้วยวิธี cytopsin โดย จำแนกเซลล์ archaeocyte choanocyte สเปิร์ม และ ไข่ จัดรูปแบบและระยะของการเจริญของเซลล์สีบัพันธุ์ ตามผลการศึกษาของ Ereskovsky (2000); Asa (2000); Witte (1994); Fromont (1994) และ Kaye (1991) นำข้อมูลปัจจัยสภาพต่าง ๆ มาหาความสัมพันธ์กับช่วงที่พบเซลล์สีบัพันธุ์ และ เอ็มบริโอ โดยการเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการสร้างเซลล์สีบัพันธุ์ ในแต่ละเดือน กับจำนวนเซลล์สีบัพันธุ์ที่พบในแต่ละเดือน ถ่ายภาพเซลล์สีบัพันธุ์ระยะต่าง ๆ ด้วยชุดอุปกรณ์ถ่ายภาพลงในคอมพิวเตอร์

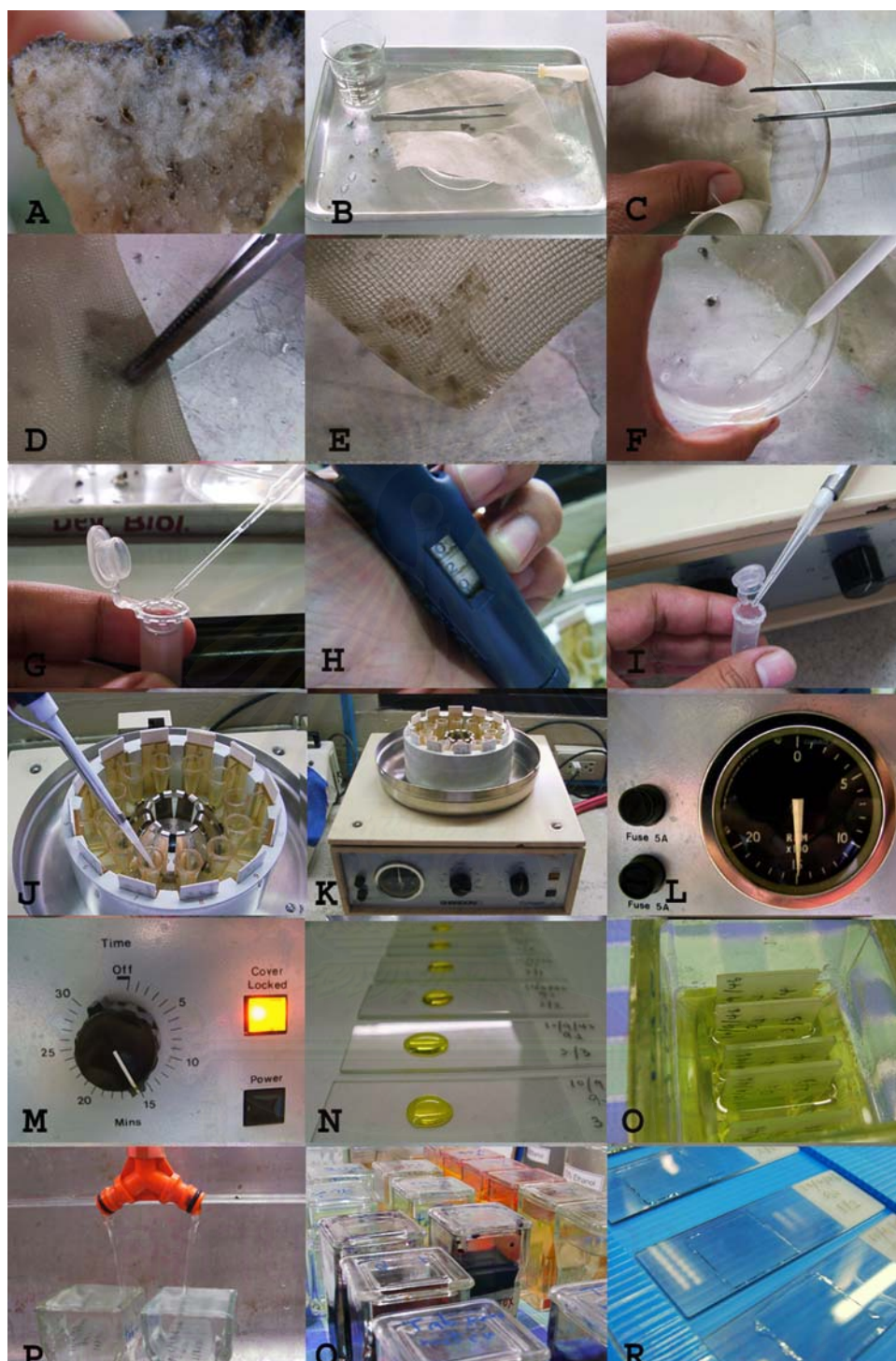


รูปที่ 19 ระบบการทำงานของเครื่อง cytopsin

A กรวย กระดาษแข็ง และกระจกสไลด์เรียงซ้อนกัน เตรียมใส่ในเครื่อง cytopsin

B กรวย กระดาษแข็ง และกระจกสไลด์เรียงซ้อนกันพร้อมแสดงทิศทางการไหลของ cells suspension โดยใส่ cell suspension ตามทิศทาง x และเมื่อเครื่อง cytopsin ทำงาน cells suspension จะถูกเหวี่ยงด้วยแรงหนีศูนย์กลางไปติดบนสไลด์ ตามทิศทาง y ส่วนน้ำที่เกินจะถูกดูดซับไว้ด้วยกระดาษแข็งชั้นกลาง

C กรวย กระดาษแข็ง และกระจกสไลด์ จัดเรียงในเครื่อง cytopsin ใส่ได้ครั้งละ 12 ชุด



รูปที่ 20 ขั้นตอนการศึกษาเซลล์ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ด้วยวิธี cytopsin

A เนื้อเยื่อฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

B – E การขยี่เนื้อเยื่อฟองน้ำ ผ่านตาข่ายไนลอนขนาดตาข่าย 500 μm .

F – J การดูด cell suspension ใส่ในเครื่อง cytopsin

K – N การทำงานของเครื่อง cytopsin โดยหมุนที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ครบเวลา นำกระจกไลต์ออกจากเครื่อง cytopsin แล้ว fixed ด้วย bouin's fixative เป็นเวลา 5 นาที

O – R การย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin และ mount ด้วย permount

การทดลองเลี้ยงและศึกษาการเติบโตของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในห้องปฏิบัติการ

การทดลองเลี้ยงและศึกษาการเติบโตของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตำบลท่าเทววงศ์ อำเภอเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนมกราคม 2546 ถึงเดือนมิถุนายน 2547 การศึกษาการเติบโตแบ่งเป็นสองชุดการทดลองคือ

1. การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เบื้องต้น

การทดลองชุดแรกเป็นการทดลองเลี้ยงเบื้องต้นเพื่อศึกษาอัตราการรอดและความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยง โดยทดลองเลี้ยงฟองน้ำ 32 โคโลนี น้ำหนักเริ่มต้นแตกต่างกันตั้งแต่ 7.2 กรัมถึง 102 กรัม โดยแบ่งเป็น 4 กระบะ กระบะละ 8 โคโลนีในบ่อที่มีระบบน้ำไหลผ่านตลอด ที่ความลึก 50 เซนติเมตรจากผิวน้ำ (รูปที่ 21) โดยใช้ความยาวเชือกและทุ่นลอย (รูปที่ 21B) เป็นตัวกำหนดความลึก โดยเลี้ยง 2 บ่อเปรียบเทียบกัน เพื่อทดสอบความแตกต่างของคุณภาพน้ำต่อการเติบโตของฟองน้ำ

บ่อ A (รูปที่ 22A) (บ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง ปริมาตรน้ำ 20 ตัน อยู่กลางแจ้งมี slant คลุมบังแสง 50 เปอร์เซ็นต์ มีการให้ออกซิเจน โดยแหล่งอาหารมาจากแพลงก์ตอนที่เหลือจากระบบเลี้ยงและผ่านมากับน้ำ อัตราการไหลของน้ำ 720 ลิตร ต่อชั่วโมง เมื่อเลี้ยงไปได้ 5 เดือน ได้ย้ายฟองน้ำไปเลี้ยงต่อในบ่อ B)

บ่อ B (รูปที่ 22B) (บ่อในระบบเลี้ยง ปริมาตรน้ำ 5 ตัน มีการให้ออกซิเจน แหล่งอาหารได้มาจากแพลงก์ตอนขนาดเล็กที่หลุดรอดมาจากการกรองเบื้องต้น (กรองทราย) (ขนาดไม่เกิน 1 μm .) อัตราการไหลของน้ำในบ่อ 150 ลิตรต่อชั่วโมง) เป็นเวลา 7 เดือน

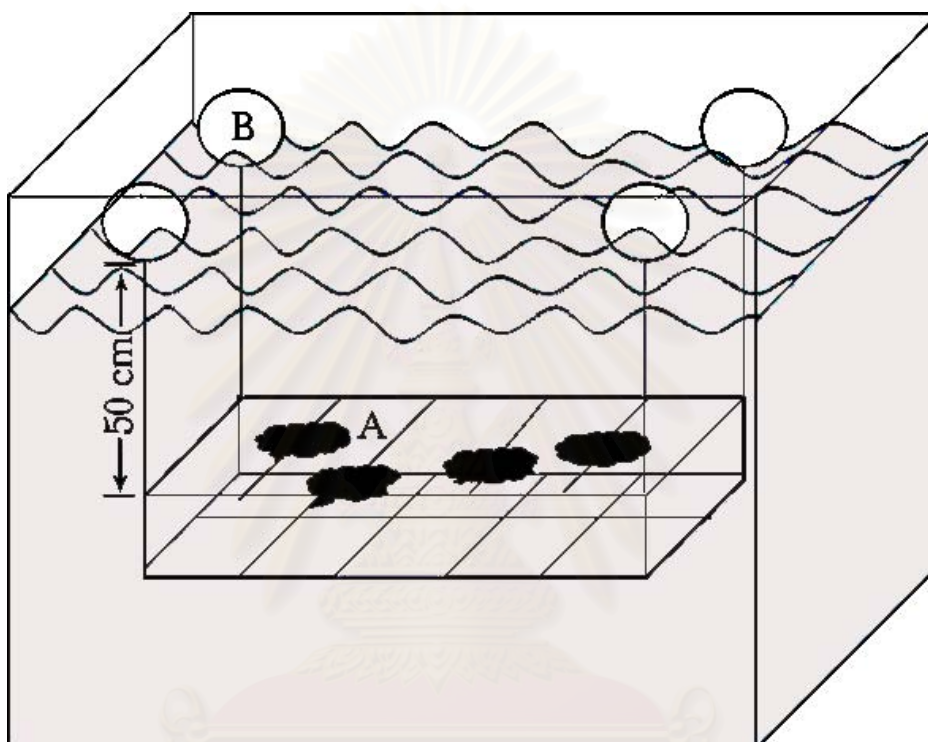
2. การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน

การทดลองชุดที่สองการทดลองเลี้ยงเพื่อวัดอัตราการเติบโตเปรียบเทียบในบ่อที่มีสภาพแตกต่างกันคือทดลองเลี้ยงบ่อละ 2 กระบะ กระบะละ 3 โคโลนีเป็นเวลา 5 เดือน โดยแต่ละโคโลนีมีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 100- 600 กรัม เลี้ยงที่ความลึก 50 เซนติเมตร จากผิวน้ำ โดยใช้ความยาวเชือกและทุ่นลอย เป็นตัวกำหนดความลึก โดยเลี้ยงใน

บ่อ C (รูปที่ 23C) (บ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง ปริมาตรน้ำ 20 ตัน อยู่กลางแจ้งมี slant คลุมบังแสง 50 เปอร์เซ็นต์ มีการให้ออกซิเจน อาหารได้จากแพลงก์ตอนที่เหลือจากระบบเลี้ยงและผ่านมากับน้ำ อัตราการไหลของน้ำ 720 ลิตร ต่อชั่วโมง)

บ่อ D (รูปที่ 23D) (บ่อในระบบเลี้ยง ปริมาณน้ำ 1 ตัน อยู่ในโรงเรือน มีการให้ออกซิเจน ให้อาหารเป็นสาหร่าย *Tetracelmis* sp. วันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 20 ลิตร (ความหนาแน่นเซลล์ 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) อัตราการไหลของน้ำ 120 ลิตรต่อชั่วโมง)

บ่อ E (รูปที่ 23E) (บ่อเก็บน้ำดิบก่อนเข้าระบบกรอง ปริมาณน้ำ 400 ตัน แหล่งอาหารได้มาจากแพลงก์ตอนจากน้ำธรรมชาติที่สูบเข้ามา อัตราการไหลของน้ำ 10 ตันต่อชั่วโมง)

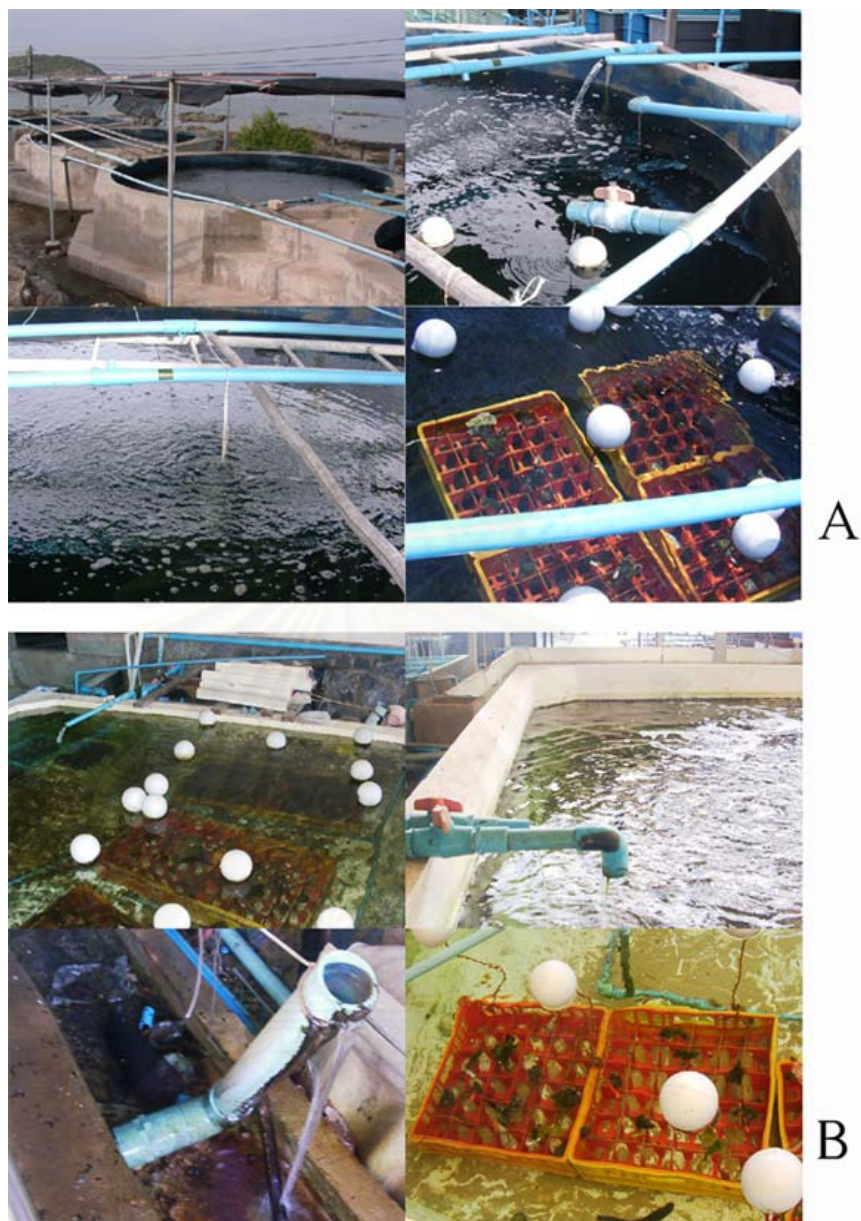


รูปที่ 21 ลักษณะกระบะเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

A ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ผูกติดกับกระบะโดยใช้เอ็นตกลาว์ร้อยผ่านโคโลนี

B ทุ่นลอย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 22 การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เบื้องต้น ที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ.2546 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ.2546

A = บ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง ปริมาณน้ำ 20 ตันอยู่กลางแจ้งมี slant คลุมบังแสง 50 เปอร์เซ็นต์ มีการให้ออกซิเจน โดยแหล่งอาหารจากแพลงก์ตอนที่เหลือจากระบบเลี้ยง และอัตราการไหลของน้ำ 720 ลิตร ต่อชั่วโมง

B = บ่อในระบบเลี้ยง ปริมาณน้ำ 5 ตัน อยู่ในโรงเรือนมีการให้ออกซิเจน โดยแหล่งอาหารได้มาจากแพลงก์ตอนที่หลุดรอดจากการกรองเบื้องต้น (กรองทราย) (ขนาดไม่เกิน 1 μm .) และอัตราการไหลของน้ำในบ่อ 150 ลิตรต่อชั่วโมง



รูปที่ 23 การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน ที่สถานีวิจัย วิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

C = บ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง ปริมาณน้ำ 20 ตัน อยู่กลางแจ้งมี slant คลุมบังแสง 50 เปอร์เซ็นต์ มีการให้ออกซิเจน โดยแหล่งอาหารมาจากแพลงก์ตอนที่เหลือมาจากระบบเลี้ยง และอัตราการไหลของน้ำ 720 ลิตร ต่อชั่วโมง

D = บ่อในระบบเลี้ยง ปริมาณน้ำ 1 ตัน อยู่ในโรงเรือน มีการให้ออกซิเจน ให้อาหาร เป็นสาหร่าย *Tetraelmis* sp. วันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 20 ลิตร อัตราการไหลของน้ำ 120 ลิตรต่อ ชั่วโมง



E

รูปที่ 23 (ต่อ) การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน ที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

E = บ่อเก็บน้ำดิบ ปริมาณน้ำ 400 ตัน อยู่ในโรงเรือน ไม่มีการให้ออกซิเจนส่วนอาหารได้มาจากแพลงก์ตอนจากธรรมชาติ อัตราการไหลของน้ำในบ่อ 10 ตันต่อชั่วโมง

วัดการเติบโตของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในห้องทดลองโดยแกะฟองน้ำที่ผูกติดอยู่ในกระบะเลี้ยง มาชั่งน้ำหนักเปียกด้วยเครื่องชั่งดิจิตอลความละเอียดทศนิยม 1 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Ohyo Mode. MK-2000B) (รูปที่ 24) นำข้อมูลน้ำหนักเปียกของแต่ละเดือนมาวิเคราะห์หาอัตราการเติบโต แล้วนำมาหาค่าความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อม ที่มีการตรวจวัดในบ่อเลี้ยง ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลาย ปริมาณแอมโมเนีย ไนโตรท์ ไนเตรท และฟอสเฟต



รูปที่ 24 การชั่งน้ำหนักฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เพื่อวัดอัตราการเติบโต

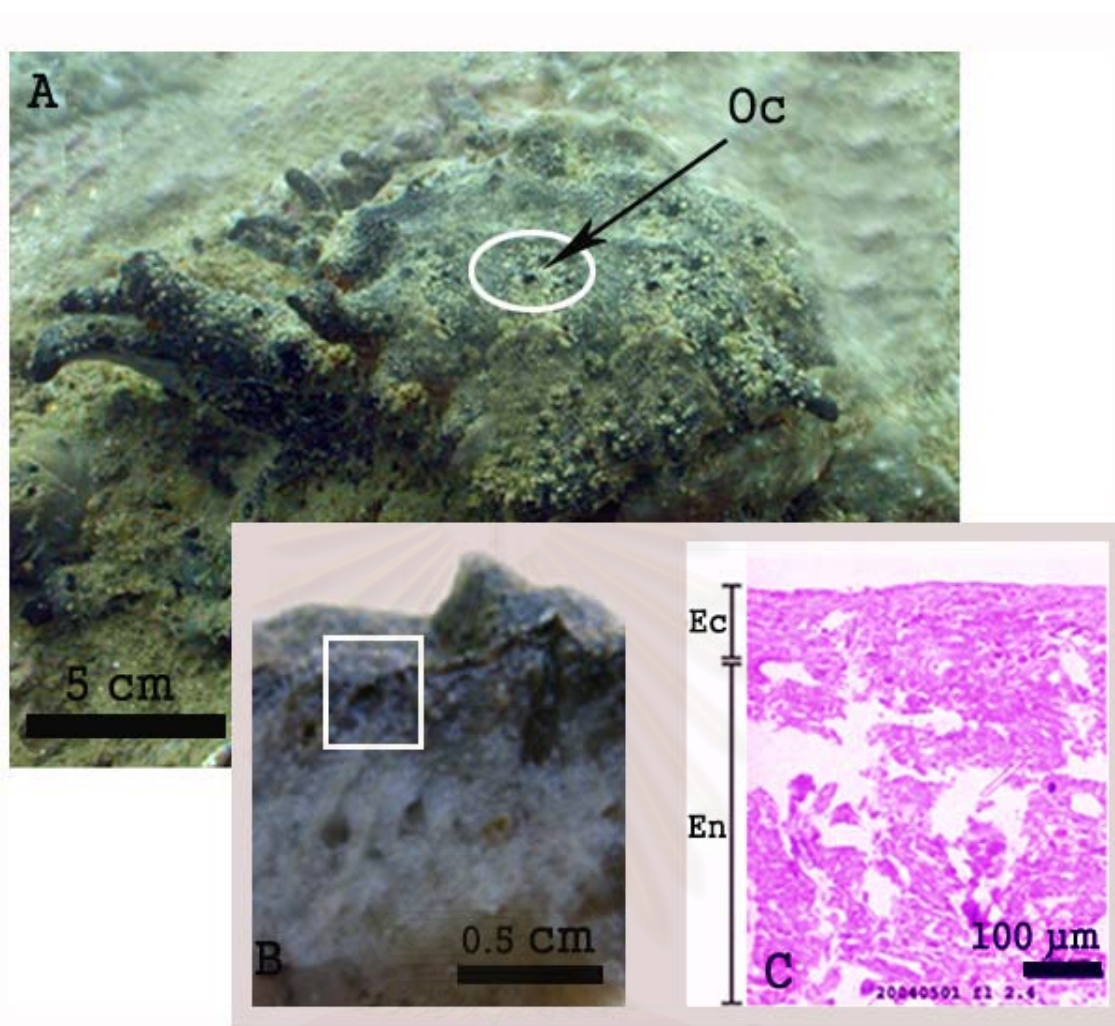
บทที่ 3

ผลการศึกษา

ลักษณะของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

ลักษณะของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เทียบกับตัวอย่าง (Voucher specimen of Queensland Museum South Brisbane, Australia) รหัส #QM G317007 จำแนกโดย Dr. John N.A. Hooper. Queensland Museum. OP-98-21 (QM G317007) *Pachastrissa* species (QM species number #2877) (Porifera: Demospongiae: Astrophorida: Calthropellidae) ฟองน้ำชนิดนี้มีหลักในการจำแนกอย่างคร่าว ๆ ได้ตามนี้

ลักษณะของโคโลนีฟองน้ำเป็นแบบ (Massive) รูปทรงกลมมน (Lobate growth form) ผิวนอกสีน้ำตาลเข้มถึงดำ และภายในมีสีอ่อน มีช่องน้ำเข้าขนาดเล็กประมาณ 50 μm . และช่องน้ำออก (Osculum) ขนาดใหญ่ประมาณ 5 mm. (รูปที่ 25A) กระจายอยู่ทั่วไปที่ผิวด้านนอก ลักษณะเนื้อ (Texture) นุ่มและยืดหยุ่น (compressible) ขณะยังมีชีวิต ผิวด้านนอกเรียบด้านสม่ำเสมอ ในเนื้อเยื่อชั้นนอก (Ectosomal skeleton) (รูปที่ 25B) มี pigment สีน้ำตาลถึงสีดำกระจายอยู่ มีความหนาประมาณ 100 μm . (รูปที่ 25C) ลักษณะของโครงสร้างในเนื้อเยื่อชั้นใน (Endosomal skeleton) มี spicules จัดเรียงตัวกันเป็นมัดเพื่อเพิ่มความแข็งแรง โดยยึดกันด้วย spongin fiber เรียกว่า Multispicule tract (รูปที่ 26 และ 27A) มีการเรียงกันจากด้านในของโคโลนีเป็นรัศมีและแตกกิ่งก้านออกไปสู่ด้านผิว ส่วนที่ผิวของฟองน้ำมีการจัดเรียงตัวของ spicules แบบ tangential skeleton (รูปที่ 27 B) โดย spicule จะมีการเรียงตัวสานกันแน่น ในชั้นนี้ยังประกอบด้วย spicule ขนาดใหญ่ รูป Dichotriaenes Calthrope และ Oxea (รูปที่ 28 A, B, C) และ มี spicule ขนาดเล็กรูป oxyaster กระจายอยู่ทั่วไป



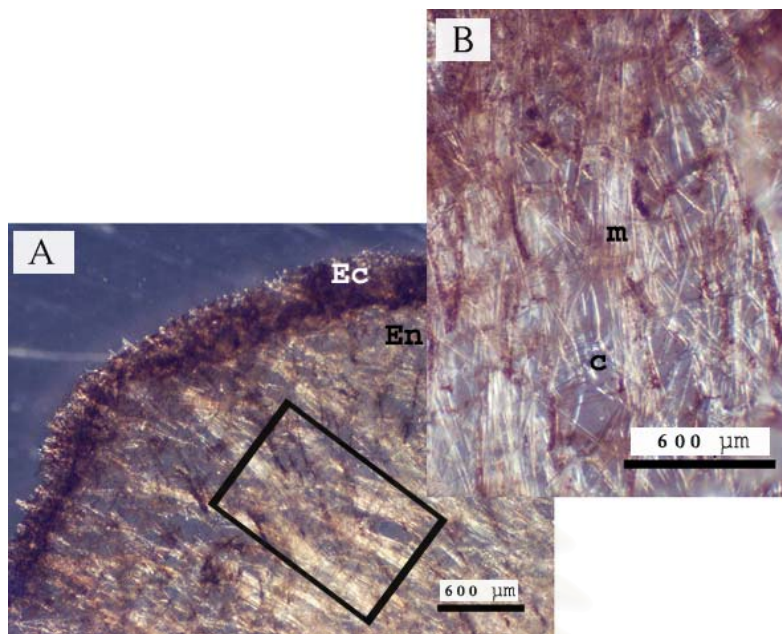
รูปที่ 25 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินส้มป็นยี่อ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี

A Colony ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในสภาพธรรมชาติ

B เนื้อเยื่อตัดตามขวาง

C เนื้อเยื่อตัดตามขวาง ศึกษาด้วยวิธีตัด Paraffin section ย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin จากส่วนของเนื้อเยื่อในตารางสี่เหลี่ยมรูป B

Ec = Ectosomal Skeleton En = Endosomal Skeleton Oc = osculum



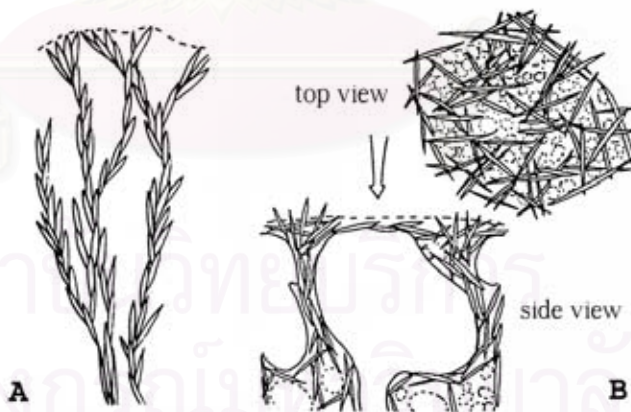
รูปที่ 26 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของ Spicule ในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

A โครงสร้างการจัดเรียงตัวของ spicule จากผิวนอกเข้ามา 0.5 เซนติเมตร

B ขยายจากตารางสี่เหลี่ยมในรูป A

Ec = Ectosomal Skeleton, En = Endosomal Skeleton, c = Calthrope,

Mu = multispicule tract



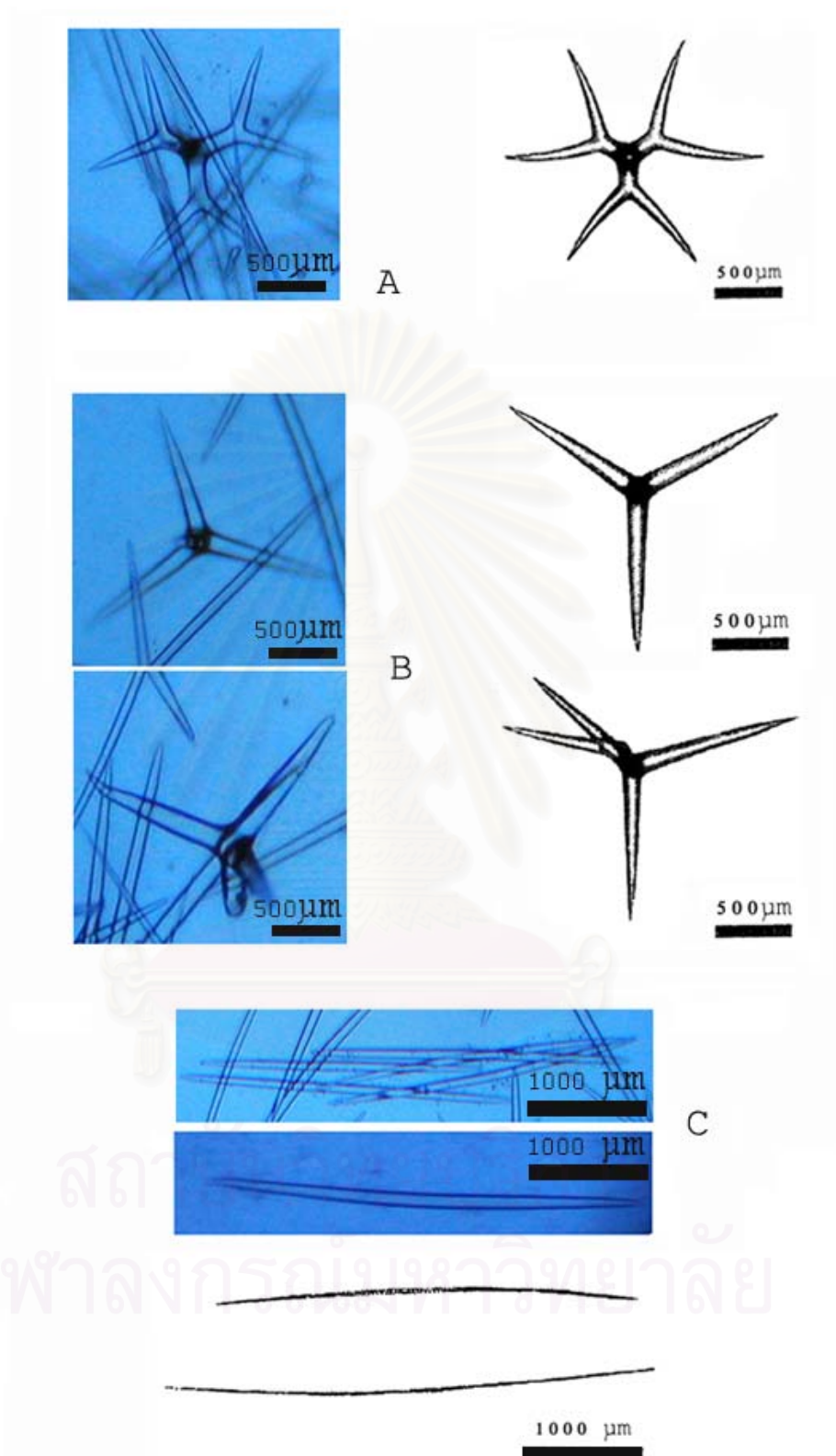
รูปที่ 27 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของ Spicule ในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

A การจัดเรียงตัวของ spicule แบบ multispicule tract,

B การจัดเรียงตัวของฟองน้ำแบบ tangential skeleton บริเวณผิวของฟองน้ำ

top view = มุมมองจากด้านบน side view = มุมมองจากด้านข้าง

ดัดแปลงจาก Boury-Esnault (1997)



รูปที่ 28 ชนิด spicule ที่พบในฟองน้ำ *Pachastrassa* sp. เปรียบเทียบจากการศึกษารังนี้กับ จากเอกสารการจำแนกชนิดฟองน้ำ A *Dichotriaenes*, B *Calthropes*, C *Oxeas*. ดัดแปลงจาก Hooper (2002)

ลักษณะการกระจายและพื้นที่ปกคลุมของพองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในธรรมชาติ

1. รูปแบบการกระจายของพองน้ำ *Pachastrissa* sp.

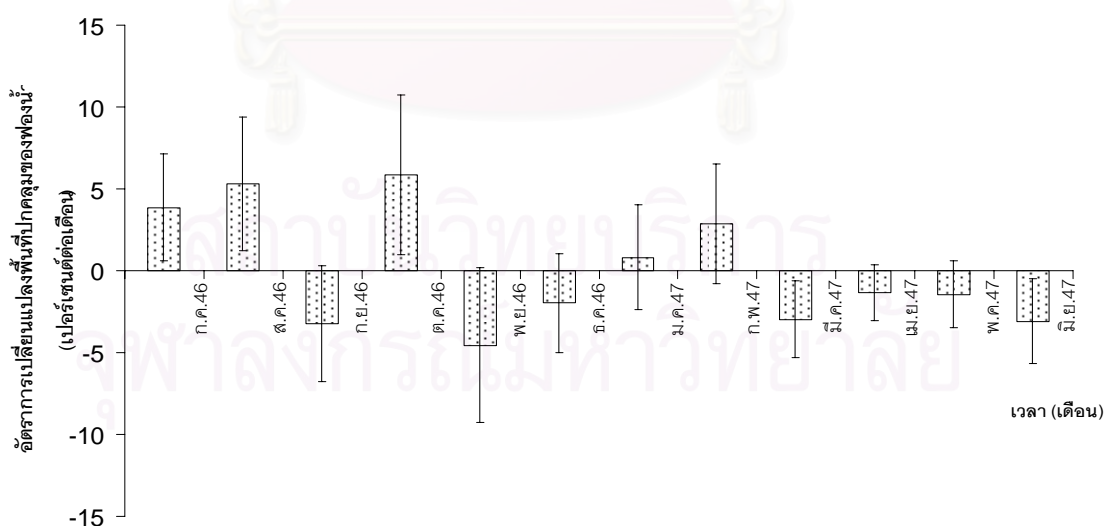
การสุ่มนับจำนวนโคโลนีและวัดขนาดของพองน้ำในธรรมชาติบริเวณที่ศึกษา จากการสุ่มนับจำนวนโคโลนีโดยใช้ Quadrat ขนาด 50x50 เซนติเมตร สุ่มจำนวน 30 ครั้ง ในเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 นับจำนวนโคโลนีพองน้ำในทุก quadrat ได้ 51 โคโลนี หรือคิดเป็น 1.7 โคโลนีต่อ quadrat หาพื้นที่ปกคลุมของพองน้ำต่อพื้นที่ที่ศึกษาทั้งหมดคิดเป็น 1.2 ตารางเซนติเมตรต่อ 1 ตารางเมตร จากการสังเกตและวาดพื้นที่ปกคลุมของพองน้ำ พบว่ารูปแบบการกระจายโดยทั่วไปของพองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีการกระจายรวมกลุ่มกันเป็นแบบ Clump

2. การเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของพองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินสัมปันธ์อในรอบปี

จากการวาดภาพพื้นที่ปกคลุมของพองน้ำพบว่าในแต่ละเดือนพองน้ำมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดของโคโลนีไม่แน่นอนโดยมีการเพิ่มและลดพื้นที่ปกคลุมในรอบปี (ตารางที่ 4 และรูปที่ 29) ช่วงที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมเพิ่มขึ้นมีสองช่วงคือในระยะแรกเดือนกรกฎาคม – ตุลาคม โดยในเดือนตุลาคมมีอัตราการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ของพื้นที่ปกคลุมมากที่สุดคือ 5.8 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน ยกเว้นในช่วงเดือนกันยายนที่มีพื้นที่ปกคลุมลดลงและเพิ่มขึ้นใหม่ในเดือนตุลาคม ในช่วงต้นปีคือเดือนมกราคมและเดือนกุมภาพันธ์มีอัตราการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ปกคลุมเช่นกันแต่ไม่สูงเท่าช่วงกลางปี ส่วนในเดือนพฤศจิกายนและเดือนธันวาคมมีอัตราการลดลงของพื้นที่ปกคลุมปกคลุมของพองน้ำโดยมีอัตราต่ำสุดในเดือนพฤศจิกายนเท่ากับ 4.54 เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน อัตราการลดลงของพื้นที่ปกคลุมพบอีกในช่วงเดือนมีนาคม – มิถุนายน พ.ศ.2547 การเกิด competition ระหว่างสิ่งมีชีวิตอื่นกับพองน้ำ *Pachastrissa* sp. พบได้ใน quadrat ที่ 5 โดยมีปะการังอ่อน (พื้นที่สีเทา) เจริญขึ้นบริเวณขอบของ quadrat ด้านขวา และมีการขยายขนาดแย่งพื้นที่เข้ามาในพื้นที่ของพองน้ำ (พื้นที่สีดำ) ขอบเขตการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมในแต่ละ quadrat ตลอดช่วงการศึกษาแสดงใน รูปที่ 30 - 34

ตารางที่ 4 พื้นที่ปกคลุมและอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมเฉลี่ยของพองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินสัมปันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

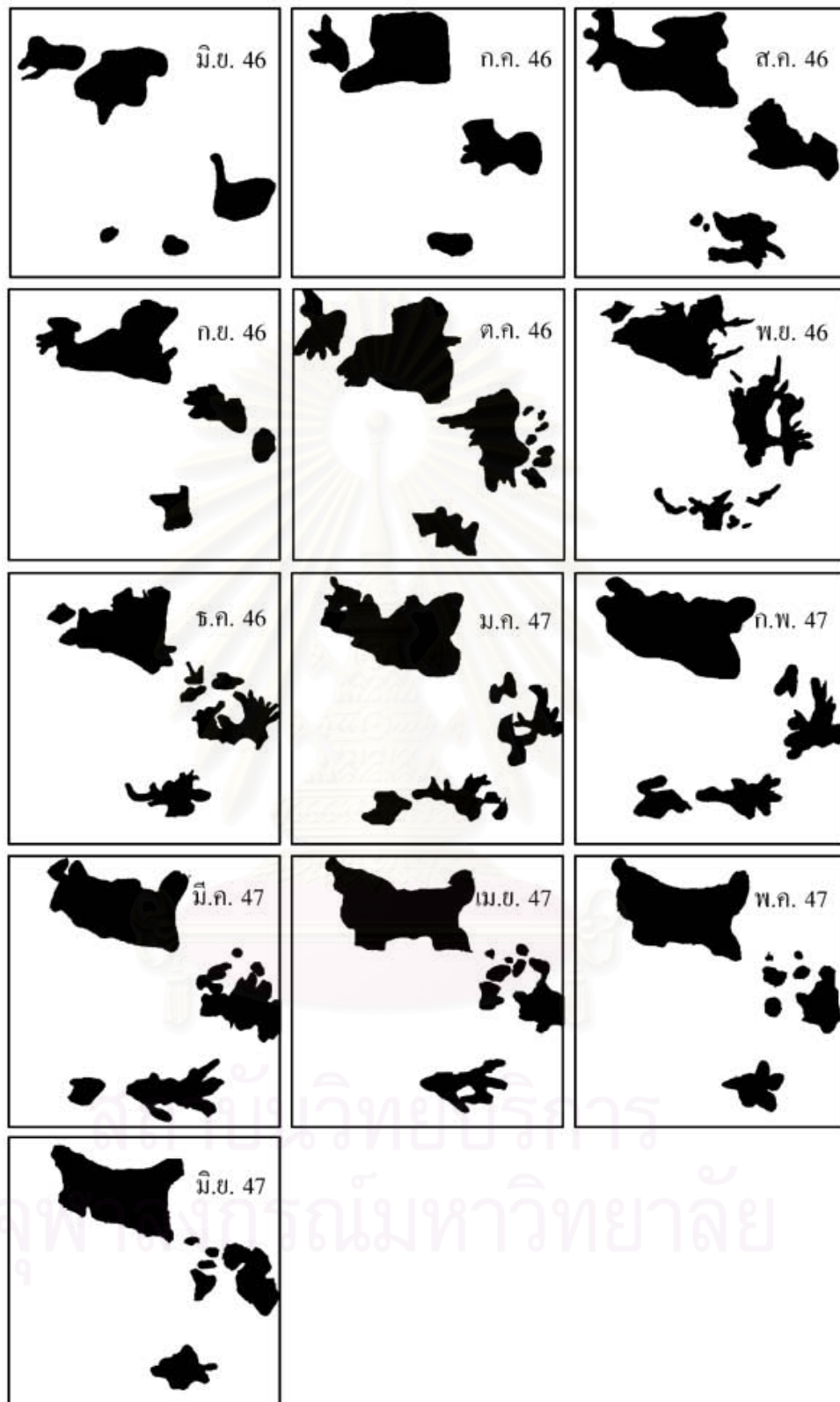
| เดือน | พื้นที่ปกคลุมของพองน้ำ (เปอร์เซ็นต์) | อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของพองน้ำ (เปอร์เซ็นต์ต่อเดือน) |
|---------|---|--|
| มิ.ย.46 | 12.34±2.37 | เริ่มต้น |
| ก.ค. 46 | 16.22±3.26 | 3.87±3.62 |
| ส.ค.46 | 21.52±4.06 | 5.30±4.06 |
| ก.ย.46 | 18.28±3.52 | -3.24±3.52 |
| ต.ค.46 | 24.14±4.87 | 5.86±4.87 |
| พ.ย.46 | 19.59±4.71 | -4.54±4.71 |
| ธ.ค.46 | 17.62±3.00 | -1.97±3.00 |
| ม.ค.47 | 18.42±3.21 | 0.80±3.21 |
| ก.พ.47 | 21.27±3.66 | 2.84±3.66 |
| มี.ค.47 | 18.30±2.33 | -2.96±2.33 |
| เม.ย.47 | 16.95±1.70 | -1.36±1.70 |
| พ.ค.47 | 15.50±2.05 | -1.45±2.05 |
| มิ.ย.47 | 12.40±2.59 | -3.10±2.59 |



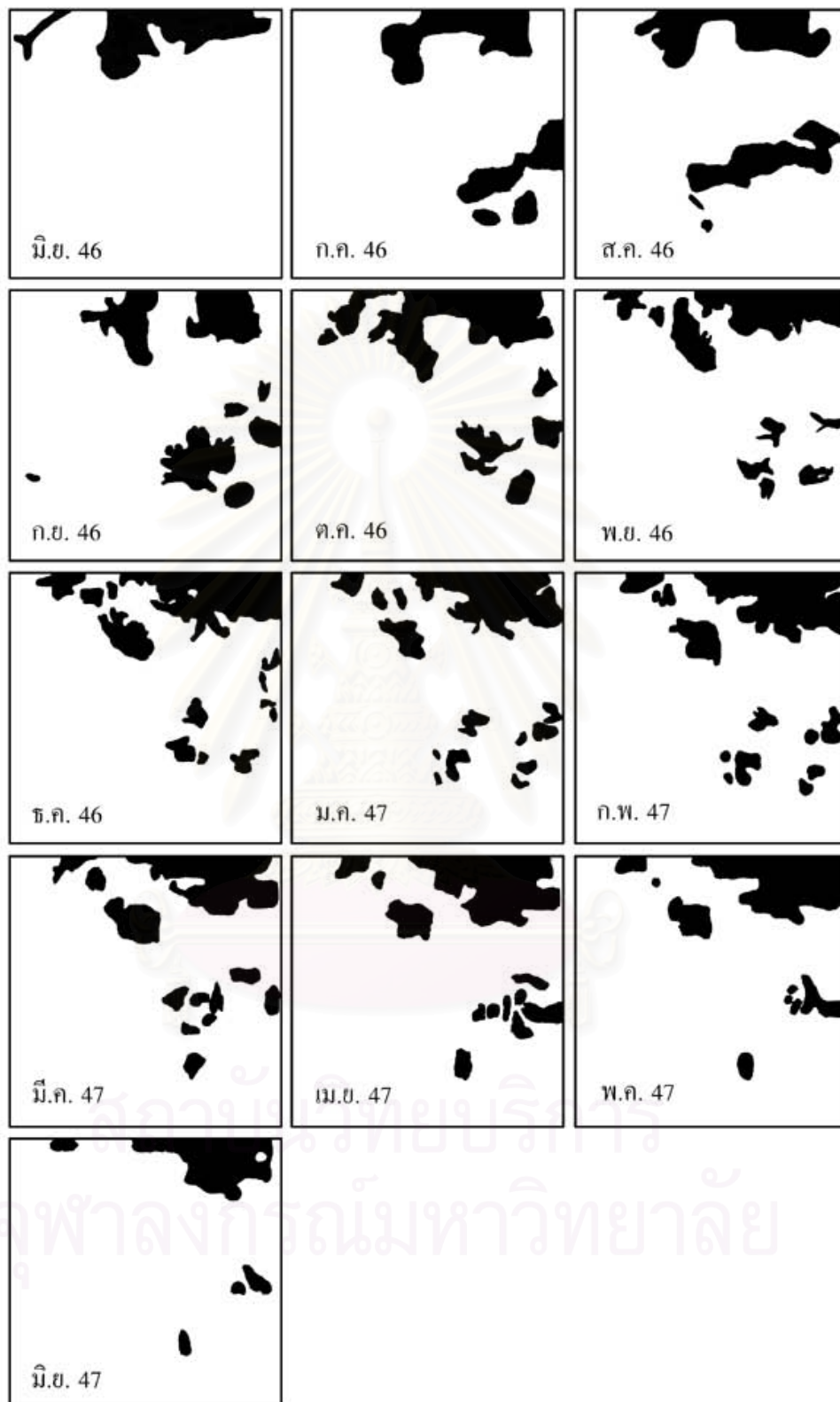
รูปที่ 29 อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของพองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินสัมปันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547



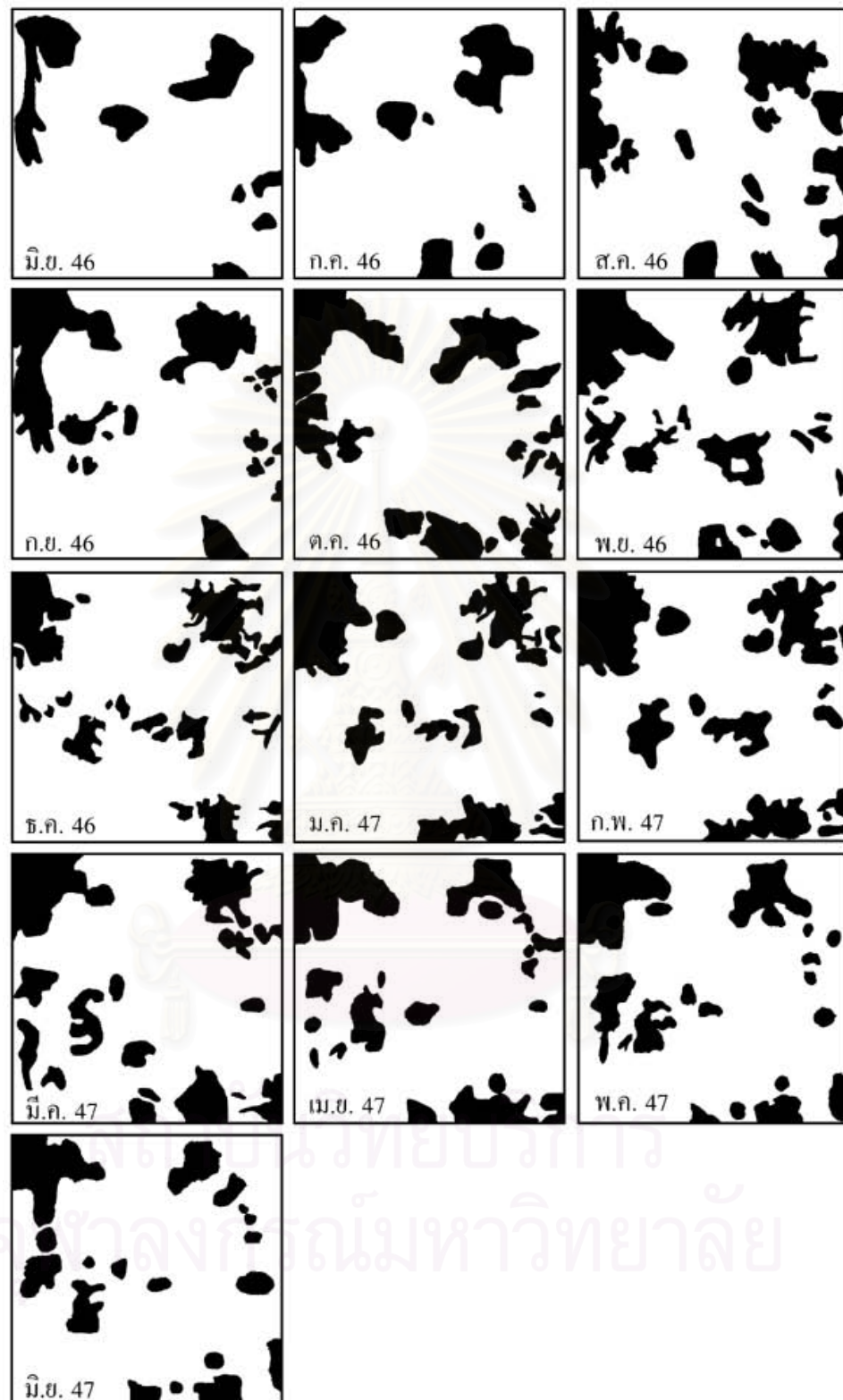
รูปที่ 30 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.บริเวณกองหินส้มปั้นยี่อ เกาะสีซัง จังหวัด
ชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 ใน quadrat ที่ 1



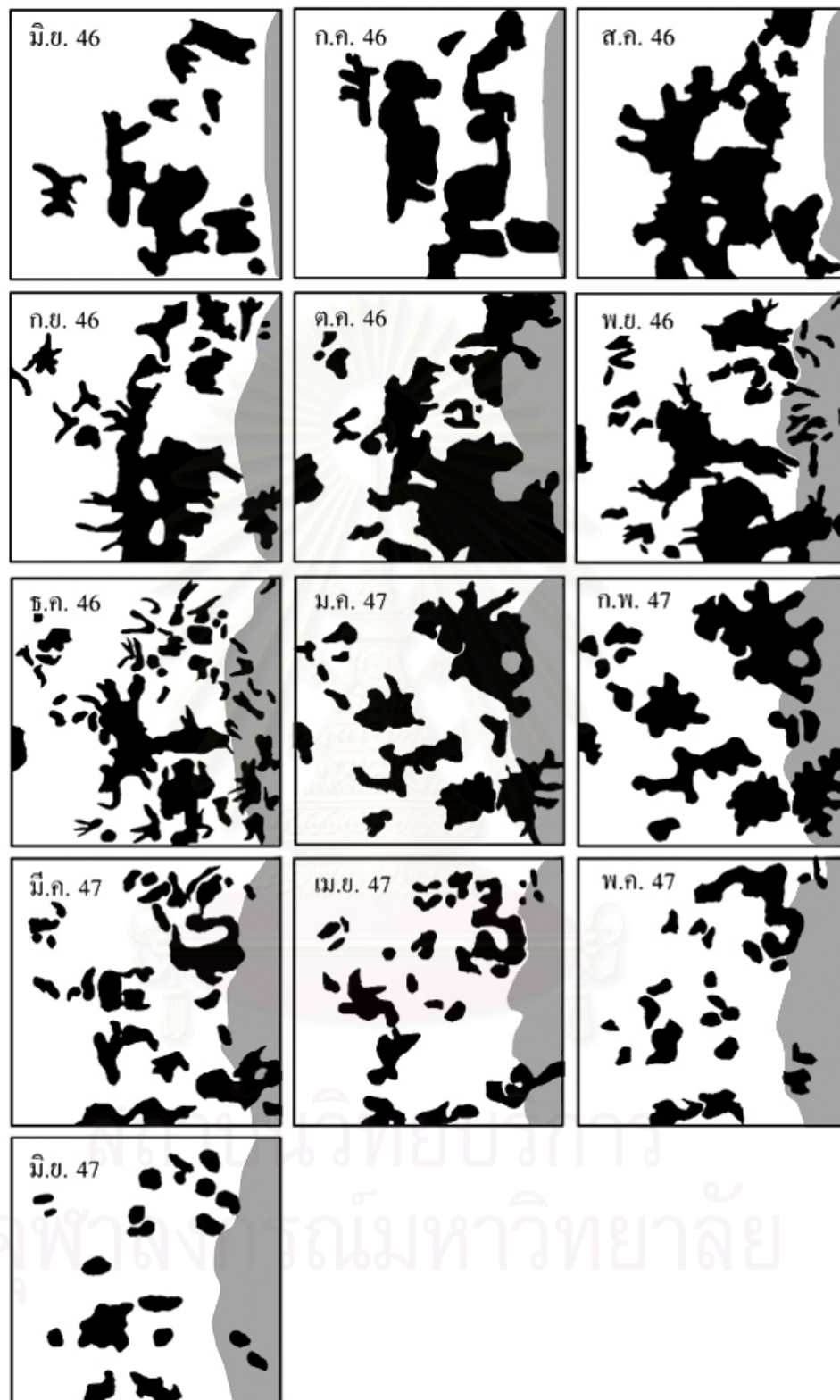
รูปที่ 31 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินส้มปั้นย้อย เกาะสี่ซั้ง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 ใน quadrat ที่ 2



รูปที่ 32 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินส้มปั้นย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 ใน quadrat ที่ 3



รูปที่ 33 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินส้มป่นยี่อ เกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 ใน quadrat ที่ 4



รูปที่ 34 พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp บริเวณกองหินส้มปั้นย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 ใน quadrat ที่ 5
 พื้นที่สีดำ = พื้นที่ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. พื้นที่สีเทา = พื้นที่ของปะการังอ่อน

3. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในธรรมชาติ

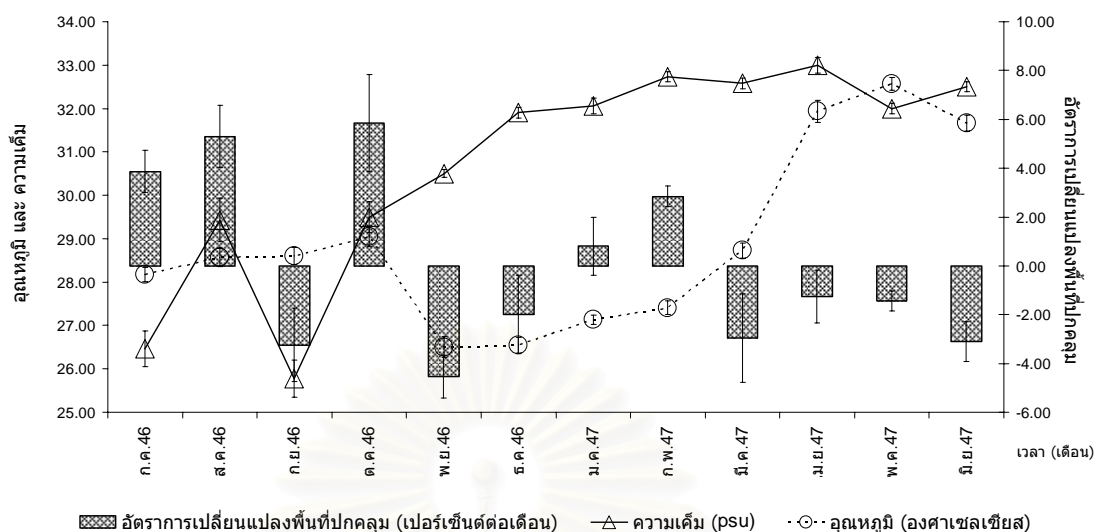
จากผลการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 พร้อมทั้งการวิเคราะห์ทางสถิติหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ดังแสดงในรูปที่ 35 และตารางที่ 5 มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

-อุณหภูมิ อุณหภูมิของน้ำทะเลบริเวณเกาะสีชังในช่วงที่ทำการศึกษามีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 26.50 ถึง 32.57 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิกับอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ (ตารางที่ 5)

-ความเค็ม ความเค็มของน้ำบริเวณเกาะสีชังในช่วงที่ทำการศึกษามีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 25.78 ถึง 33.00 psu. การเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกับการเปลี่ยนแปลงความเค็ม คือเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วยดังเห็นได้ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2546 และช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 แต่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ (ตารางที่ 5)

-ปริมาณน้ำฝน ปริมาณน้ำฝนบริเวณเกาะสีชังในช่วงที่การศึกษาที่ใช้ข้อมูลจากกรมอุตุนิยมวิทยา มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0 ถึง 211 มิลลิเมตรพบว่าปริมาณน้ำฝนและปริมาณความเค็มบริเวณเกาะสีชังมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ก็ไม่แสดงความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ (ตารางที่ 5)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



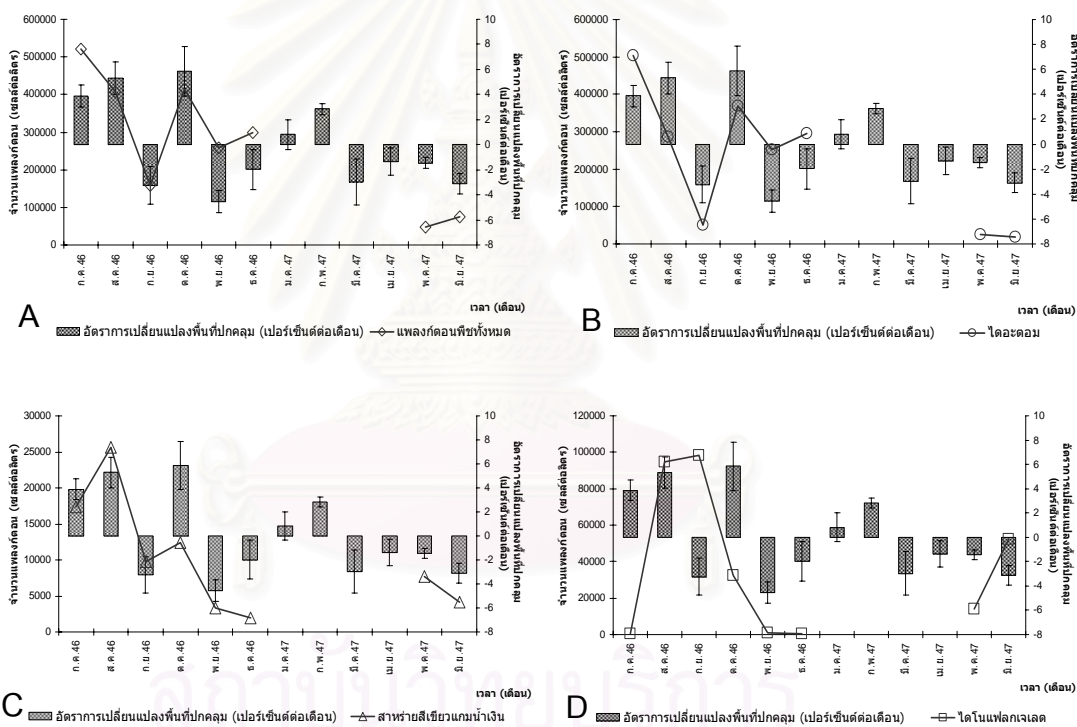
รูปที่ 35 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. กับอุณหภูมิต่ำและความเค็มบริเวณกองหินส้มบันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินส้มบันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

| ปัจจัยสิ่งแวดล้อม | ค่าสหสัมพันธ์ (r) |
|--|-------------------|
| อุณหภูมิต่ำ | -0.112 |
| ความเค็ม | -0.132 |
| ปริมาณน้ำฝน | 0.269 |
| แฟลงก์ตอนพืชทุกชนิดรวมกัน | 0.764* |
| แฟลงก์ตอนกลุ่มไดอะตอม | 0.664* |
| แฟลงก์ตอนกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลต | 0.149 |
| แฟลงก์ตอนกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน | 0.818* |

หมายเหตุ: * มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

-ปริมาณแพลงก์ตอนพืช จากข้อมูลแพลงก์ตอนพืชของสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึคนิสิต เกาะสีซัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ระหว่าง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 (ไม่มีข้อมูลเดือนมกราคม ถึงเดือนเมษายน พ.ศ.2547) จัดแพลงก์ตอนออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มไดอะตอม กลุ่มไดโนแฟลกเจลเลต และกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เมื่อนำข้อมูลแพลงก์ตอนมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์กับอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ พบว่าจำนวนแพลงก์ตอนรวม จำนวนแพลงก์ตอนกลุ่มไดอะตอมและจำนวนแพลงก์ตอนกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีความสัมพันธ์กับอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ ส่วนแพลงก์ตอนกลุ่ม ไดโนแฟลกเจลเลต ไม่แสดงความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ ดังตารางที่ 5 และ รูปที่ 36



รูปที่ 36 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. กับ ปริมาณแพลงก์ตอนพืชบริเวณเกาะสีซัง

- A จำนวนแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด
- B จำนวนแพลงก์ตอนกลุ่มไดอะตอม
- C จำนวนแพลงก์ตอนกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
- D จำนวนแพลงก์ตอนกลุ่ม ไดโนแฟลกเจลเลต

(สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึคนิสิต เกาะสีซัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

หมายเหตุ ไม่มีข้อมูลแพลงก์ตอนช่วงเดือนมกราคม ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2547

-**Competition** จากการสังเกตภายใน quadrat เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในธรรมชาติตลอดทั้งปีพบว่า ใน quadrat ที่ 5 มีปะการังอ่อนเจริญขึ้นบริเวณขอบของ quadrat ด้านขวาและมีการแย่งพื้นที่ปกคลุมกับฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. โดยมีการเปลี่ยนแปลงสลับไปมาคือช่วงเดือนมิถุนายน ถึงเดือนตุลาคมพ.ศ. 2546 ขอบเขตการขยายตัวของปะการังอ่อนเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนและเริ่มรุกเข้ามาใน quadrat ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2546 ปะการังอ่อนมีการขยายอาณาเขตมาอยู่ร่วมกับฟองน้ำพบว่า ฟองน้ำมีการเจริญแทรกอยู่กับปะการังอ่อนและอยู่ร่วมกันในเดือนมีนาคมถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 เมื่อพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำลดลงปะการังอ่อนก็รุกเข้ามาในพื้นที่ได้มากขึ้น ส่วนใน quadrat อื่นไม่พบลักษณะการแย่งพื้นที่ครอบครองโดยสัตว์ชนิดอื่น

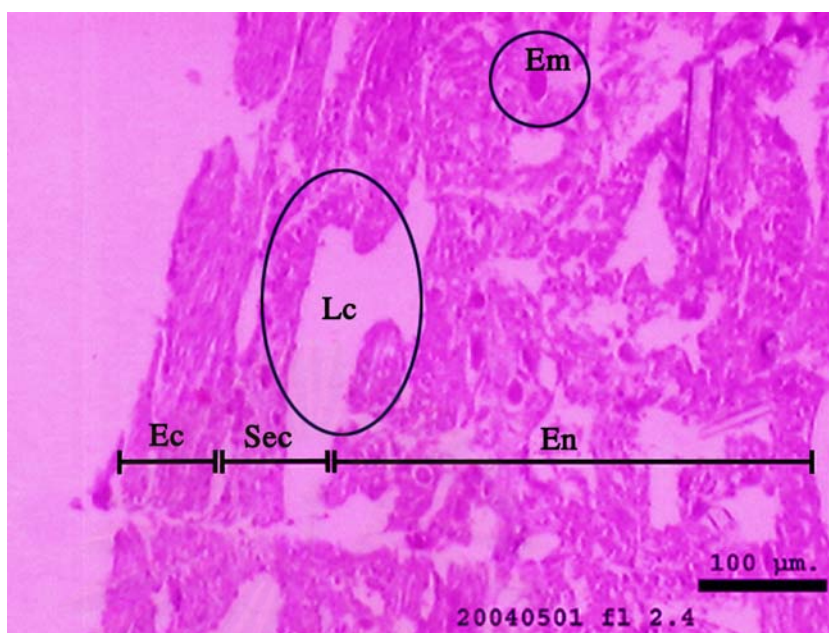
การศึกษาเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

1. การแบ่งชั้นเนื้อเยื่อของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

การแบ่งชั้นเนื้อเยื่อของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. แบ่งออกได้เป็น 2 ชั้นคือ

- **เนื้อเยื่อชั้นนอก (Ectosomal Skeleton)** ชั้นนี้หนาประมาณ 100 μ m. ประกอบด้วยชั้นของ spicule และ spongin fiber ที่เรียงตัวกันแน่น และ pigment cell สีน้ำตาลเข้มถึงดำกระจายตัวอยู่ทั่วทั้งชั้นในชั้นนี้ไม่มีระบบหมุนเวียนน้ำ (choanocyte chamber) และที่ผิวนอกสุดของชั้นนี้จะเป็นชั้นของเซลล์บุผิว pinacocyte layer ซึ่งเป็นเซลล์ชั้นเดียวเรียงกันอย่างมีระเบียบ (รูปที่ 37 - 39)

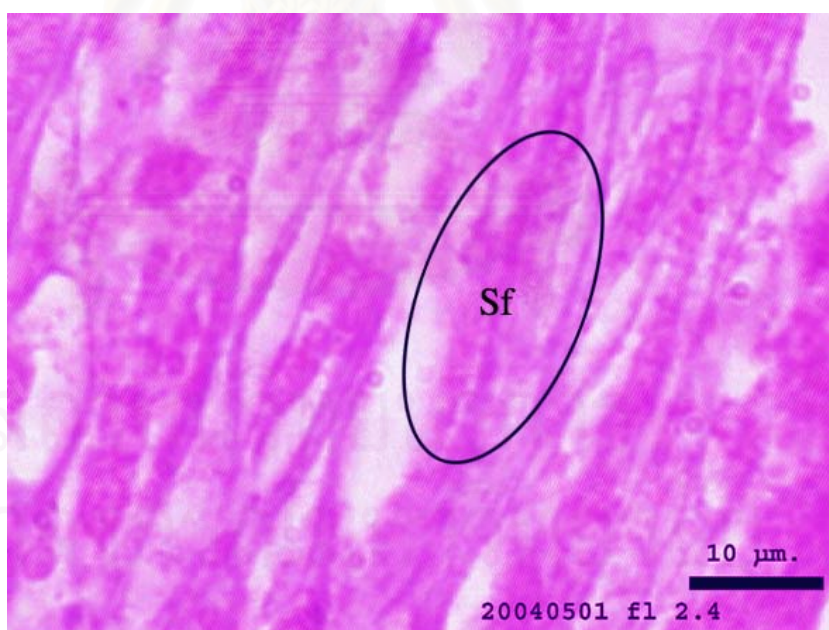
- **เนื้อเยื่อชั้นใน (Endosomal Skeleton)** เนื้อเยื่อชั้นนี้หนาน้อยขึ้นกับขนาดและรูปร่างของโคโลนีของฟองน้ำ ในชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์หลายชนิดและรวมถึงระบบท่อน้ำ (Oscules, Choanocyte chamber) ในชั้น Subectosomal skelaton ที่ถัดมาจากเนื้อเยื่อชั้นนอก มีช่องน้ำ (Lacunae) ขนาดใหญ่พาดผ่าน ในชั้นนี้จะพบเซลล์หลักของฟองน้ำได้เช่น Archaeocyte, Spicule, ชั้นของ Choanocyte, เอ็มบริโอ และ Spermatic cyst (รูปที่ 40 - 43)



รูปที่ 37 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (Section H&E)

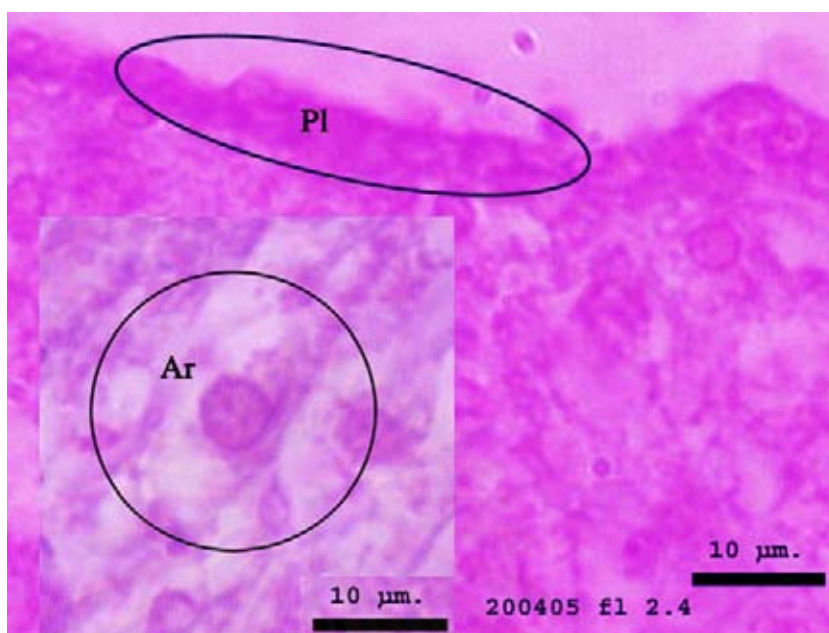
Ec = Ectosomal Skelaton, Sec = Subectosomal Skeleton

En = Endosomal Skelaton, Lc = Lacunae, Em = Embryo



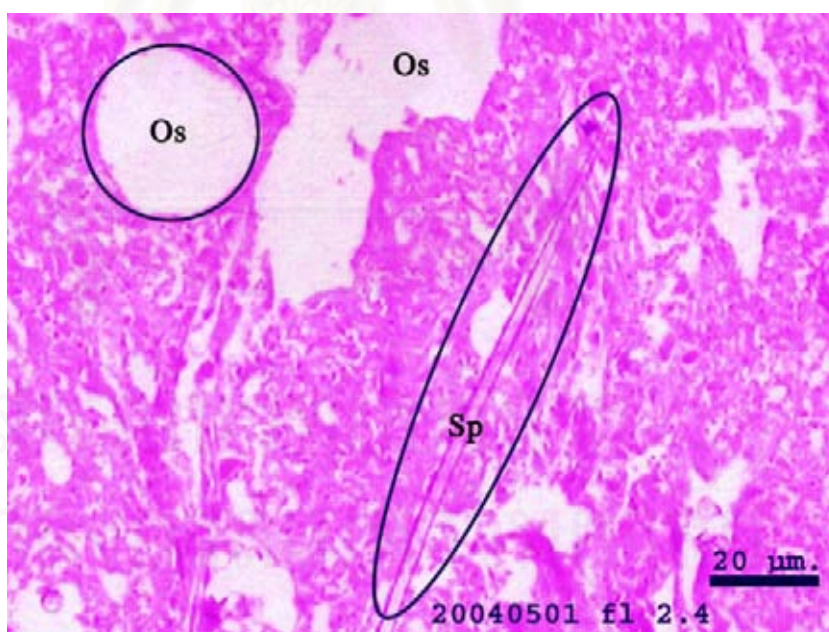
รูปที่ 38 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อฟองน้ำ (spongin fiber) ในเนื้อเยื่อส่วน Ectosomal skeleton (Section H&E)

Sf = Spongin fiber



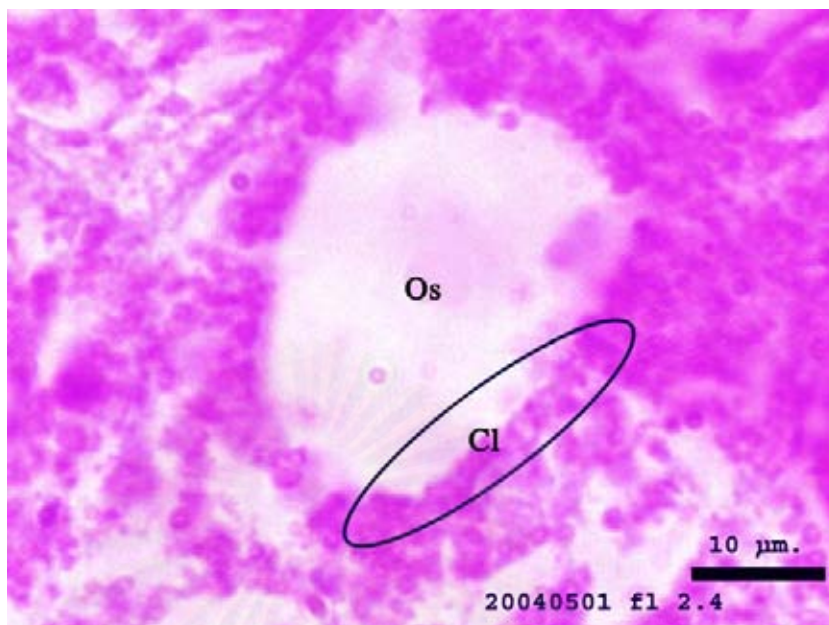
รูปที่ 39 โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของเซลล์บุผิว (Pinacocyte) และ Archaeocyte ในเนื้อเยื่อส่วน Ectosomal skeleton (Section H&E)

PI = Pinacocyte layer, Ar = Archaeocyte

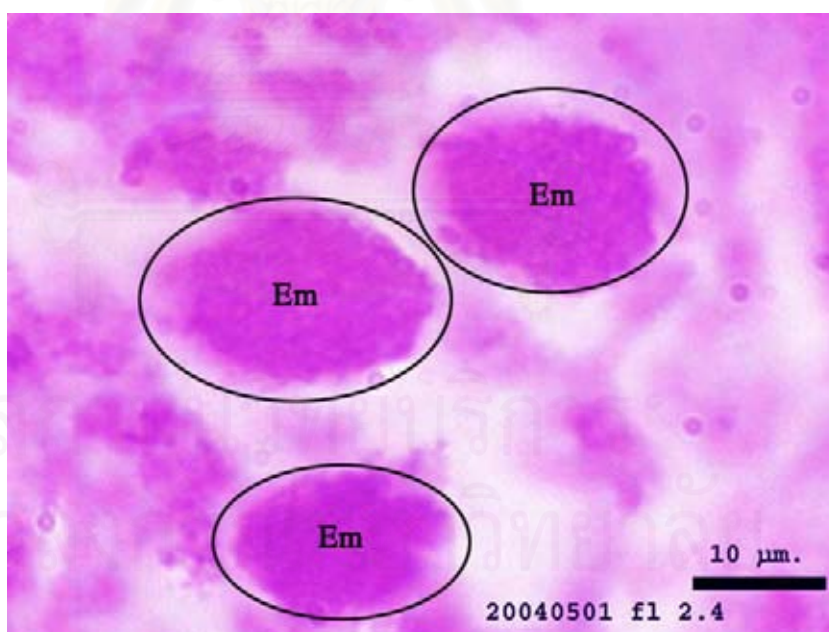


รูปที่ 40 โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของ Spicule และ ช่องน้ำ (Oscules) ในเนื้อเยื่อส่วน Endosomal skeleton (Section H&E)

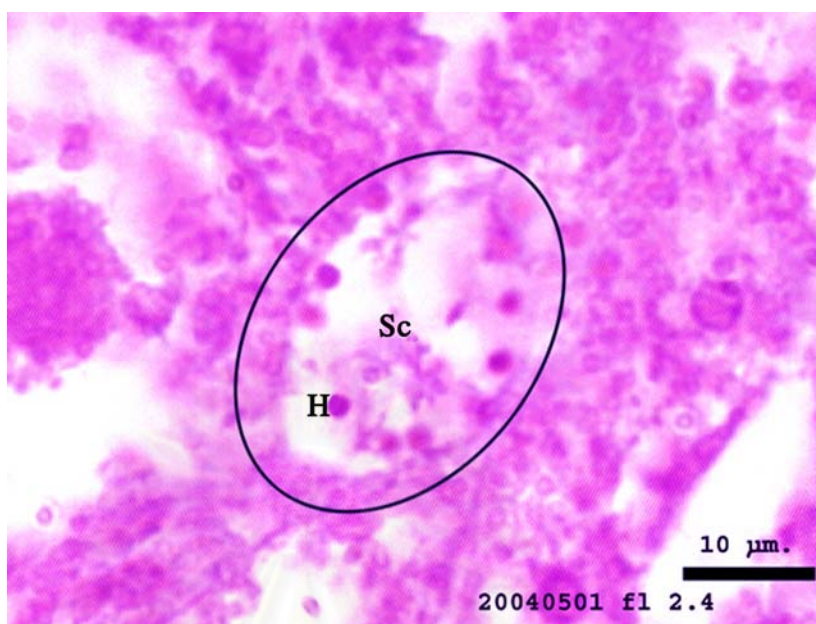
Os = Oscules Sp = Spicule



รูปที่ 41 โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของ Choanocyte layer ในเนื้อเยื่อส่วน
Endosomal skeleton (Section H&E)
Os = Oscules Cl = Choanocyte layer



รูปที่ 42 โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของเอ็มบริโอ (Embryo) ในเนื้อเยื่อส่วน
Endosomal skeleton (Section H&E)
Em = Embryo



รูปที่ 43 โครงสร้างการจัดเรียงตัวและตำแหน่งของถุงสเปิร์ม ในเนื้อเยื่อส่วน Endosomal skeleton (Section H&E)

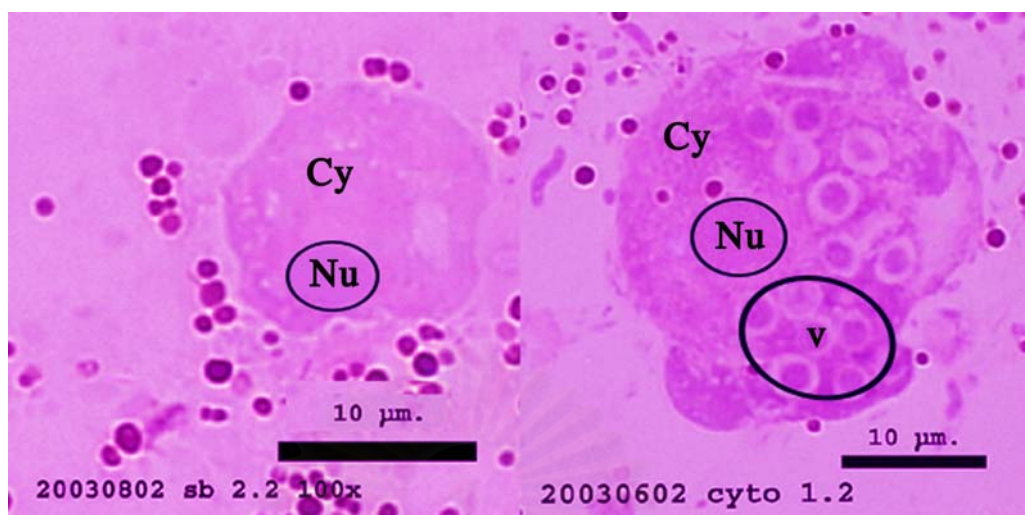
Sc = Spermatic cyst H = Sperm head

2. ลักษณะของเซลล์ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

จากการศึกษาเซลล์ของฟองน้ำด้วยวิธี Cytospin technique สามารถจำแนกเซลล์ฟองน้ำได้ 4 ชนิดคือ

- Archaeocyte

Archaeocyte เป็นเซลล์หลักของฟองน้ำสามารถเปลี่ยนแปลงตัวเองเพื่อทำหน้าที่ต่าง ๆ ในฟองน้ำได้ ลักษณะของเซลล์ archaeocyte ทั่วไปขนาดประมาณ 12 – 20 μm. มี Cytoplasm ติดสีชมพูขอบเขตของเซลล์ไม่แน่นอนบางครั้งมีเท้าเทียม (Pseudopodia) ยื่นออกมาเพื่อโอบอาหารเข้ามาใน cytoplasm แล้วย่อยอาหารภายในเซลล์ (Phagocytosis) และมี vacuole ซึ่งเป็นที่เก็บอาหาร (food vacuole) ส่วน nucleus มีขนาดประมาณ 4 μm. ติดสีน้ำเงินหรือม่วง ขอบของ nucleus เรียบ (รูปที่ 44)

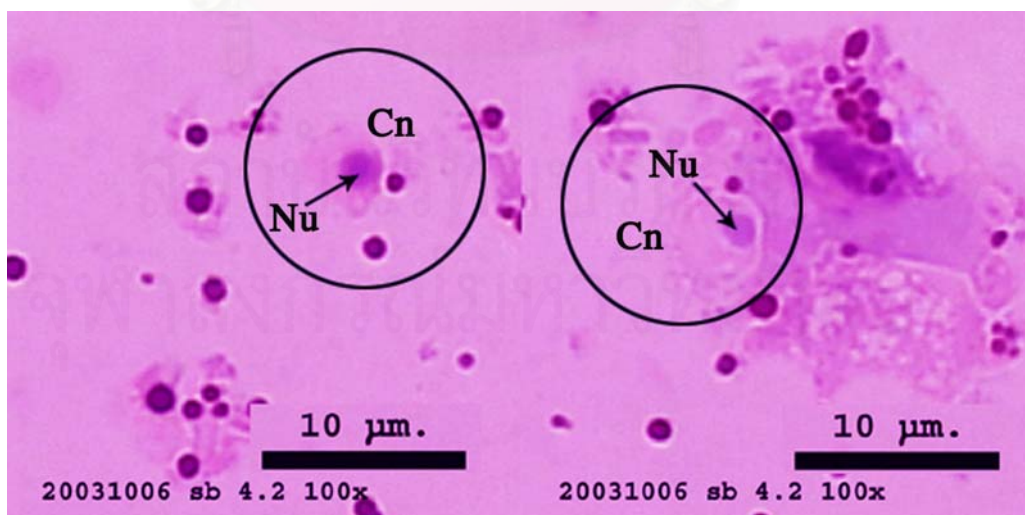


รูปที่ 44 เซลล์ Archaeocyte ในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (Cytospin H&E)

Nu = nucleus Cy = cytoplasm, v = food vacuole

- Choanocyte

Choanocyte เป็นเซลล์หลักอีกชนิดหนึ่งที่พบในฟองน้ำ choanocyte มีหน้าที่ในการโบกพัดทำให้เกิดกระแสน้ำหมุนเวียนภายในตัวฟองน้ำ ลักษณะของ choanocyte มีขนาดเซลล์ประมาณ 5 µm. cytoplasm มีลักษณะใสติดสีชมพูอ่อนขอบเขตเซลล์เรียบ มี nucleus ขนาดเล็กประมาณ 2 µm. ติดสีน้ำเงินหรือม่วง ขอบเขตของ nucleus เรียบ (รูปที่ 45)

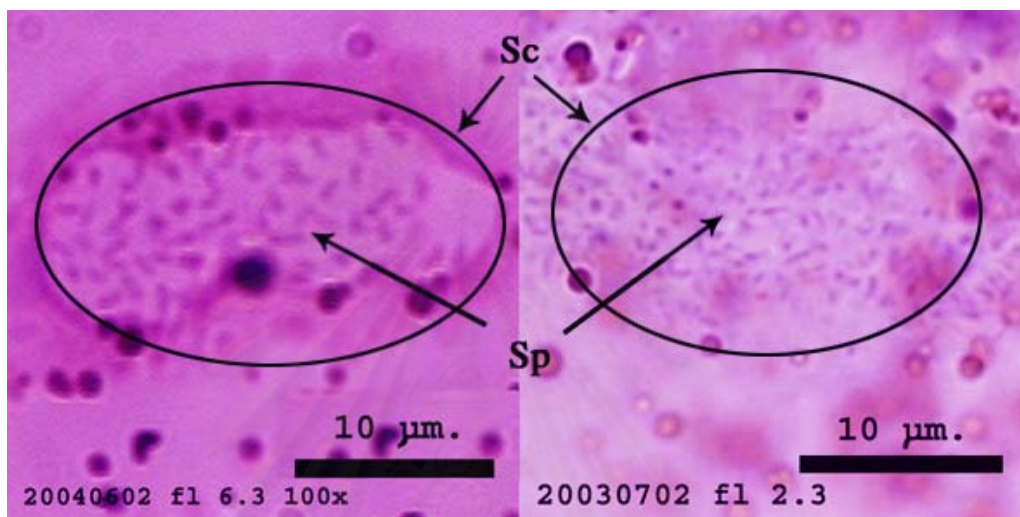


รูปที่ 45 เซลล์ Choanocyte ในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (Cytospin H&E)

Cn = Choanocyte Nu = nucleus

- ถุงสเปิร์ม (Spermatocyst)

ถุงสเปิร์มเป็นที่อยู่ของสเปิร์มฟองน้ำ มีลักษณะเป็นถุงบรรจุ sperms ไว้ภายใน มีขนาดความกว้างประมาณ 20-50 μm . ส่วนหัว (Head) ของสเปิร์ม ติดสีน้ำเงินหรือม่วง มีขนาดประมาณ 2 μm . (รูปที่ 46) จากการศึกษาสังเกตไม่เห็นส่วนหางเนื่องจากมีขนาดเล็กมาก



รูปที่ 46 ถุงสเปิร์ม (Spermatocyst) และ สเปิร์ม (Sperms) ในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (Cytospin H&E) Sc = spermatocyst Sp = Sperms

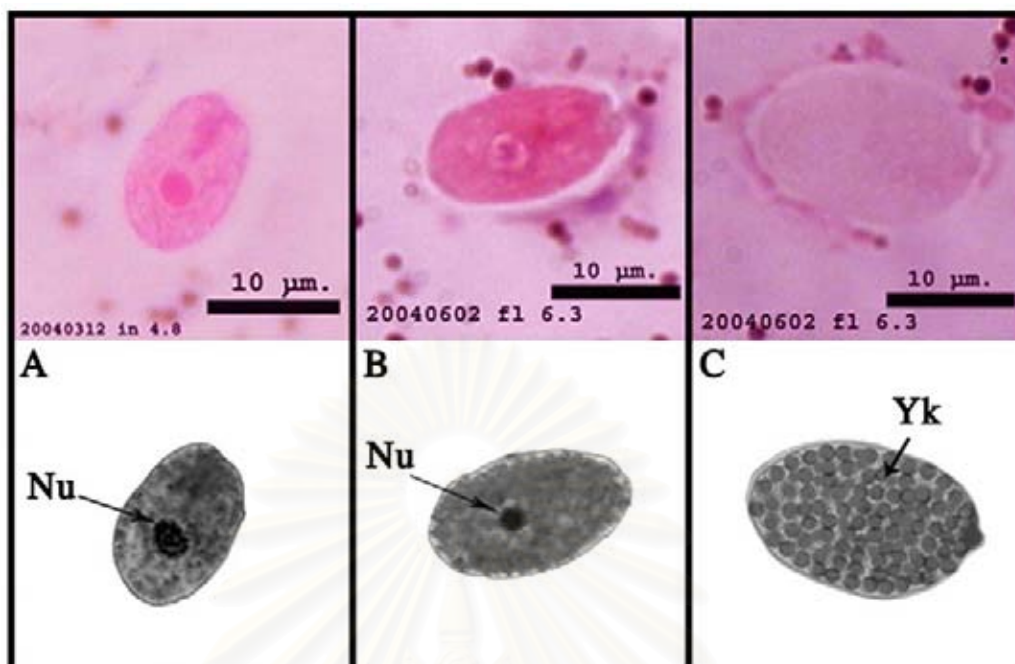
- ไข่ (Oocyte)

ไข่ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีขนาดประมาณ 8-20 μm .สามารถแบ่งเป็นระยะต่างๆ ได้ ตามขั้นการเจริญตามรูปที่ 47A- 47C

- Early developed oocyte เซลล์ขนาด 8-10 μm . เห็นนิวเคลียสสีชมพูเข้มอยู่กลางเซลล์ cytoplasm ติดสีชมพูอ่อน

- More developed oocyte เซลล์ขนาด 10-15 μm . เซลล์ใหญ่ขึ้นมีการสะสมไข่แดง (yolk) ภายในเซลล์มากขึ้น cytoplasm ติดสีชมพูเข้มขึ้น และนิวเคลียสติดสีเข้มกว่าระยะแรก

- Fully developed oocyte เซลล์ขนาด 15-20 μm . เซลล์มีการสะสมไข่แดงเต็มที่ ไข่แดงจัดเรียงตัวกันเป็น granule ขนาดใหญ่ซึ่งจะบดบังทำให้ ไม่เห็นนิวเคลียส การติดสีจะเป็นสีน้ำตาลอ่อน



รูปที่ 47 เซลล์ไข่ (oocyte) ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (cytospin H&E)

A เซลล์ไข่ระยะ early developed

B เซลล์ไข่ระยะ more developed

C เซลล์ไข่ ระยะ fully developed

Nu = nucleus Yk = yolk

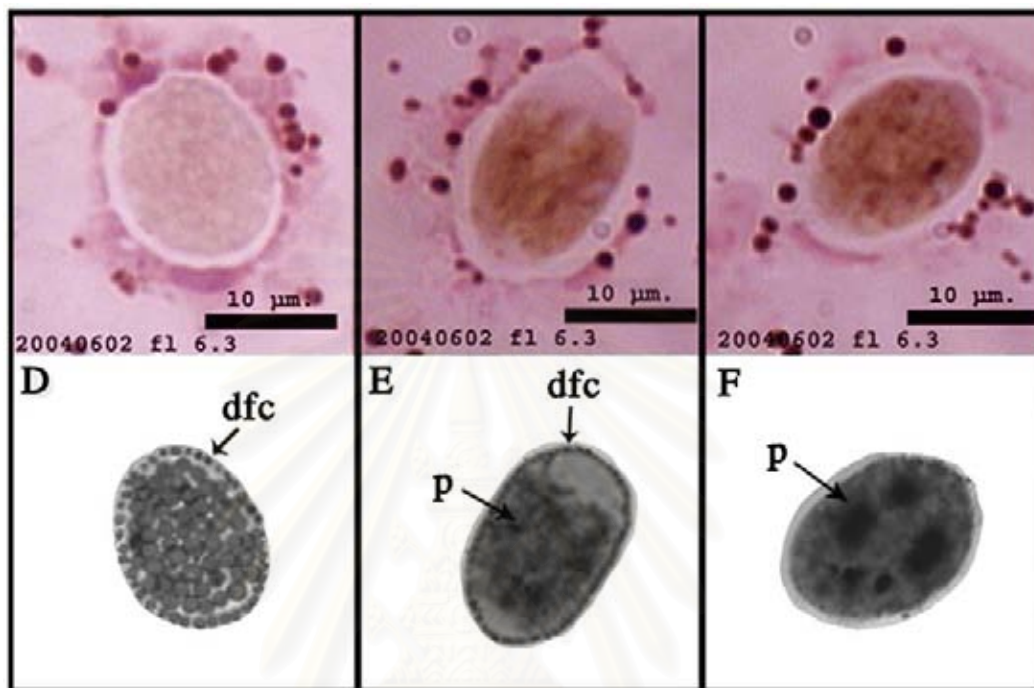
- เอ็มบริโอ (Embryo)

เอ็มบริโอของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เอ็มบริโอมีขนาดประมาณ 15 -20 μm . สามารถแบ่งเป็นระยะต่างๆ ได้ ตามขั้นการเจริญตามรูปที่ 48D – 48F

- Early developed embryo เซลล์ขนาด 15-20 μm . เริ่มมีการแบ่งเซลล์หลังจากการปฏิสนธิ สังเกตเห็นภายในเซลล์เอ็มบริโอประกอบด้วยเซลล์เล็ก ๆ ตั้งแต่ 2 เซลล์ไปจนถึงนับไม่ได้ ที่ผิวของเซลล์เริ่มมีการจัดเรียงตัวเป็นชั้นของ exoskeleton และการติดสีจะมีสีเข้มกว่าระยะ fully developed oocyte

- More developed embryo เซลล์ขนาด 15-20 μm . เริ่มมีการสะสม pigment ที่เซลล์ผิวด้านนอก การติดสีของเอ็มบริโอจะไม่ติดสีแต่เห็นเป็นสีน้ำตาลเนื่องจาก pigment ของเอ็มบริโอเอง ซึ่งมีการกระจายของ pigment เริ่มจากกลางตัวก่อนจนกระทั่งทั่วทั้งตัว

- Fully developed embryo เซลล์ขนาด 15-20 μm . มี pigment cell กระจายรอบเซลล์ และเอ็มบริโอจะไม่ติดสีแต่มีสีน้ำตาลของ pigment cell รอบลำตัว และมองไม่เห็นอวัยวะภายใน



รูปที่ 48 เอ็มบริโอ (embryo) ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (cytospin H&E)

D เอ็มบริโอระยะ early developed

E เอ็มบริโอระยะ more developed

F เอ็มบริโอระยะ fully developed

dfc = differentiated flagellated cells p = pigment

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

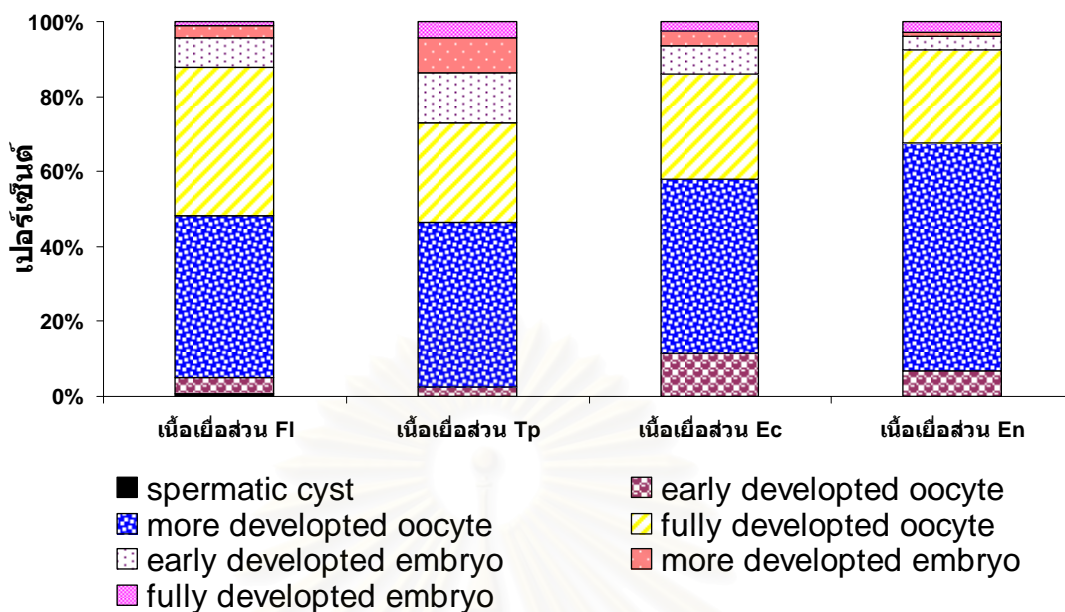
3. การพบชนิดและจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำในโคโลนี

จากการศึกษาชนิดและจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำตามตำแหน่งต่าง ๆ ของโคโลนีฟองน้ำ พบว่าเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำกระจายอยู่ทั่วทั้งโคโลนี

จากการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. กับส่วนต่างๆของเนื้อเยื่อพบว่า มีเซลล์สืบพันธุ์ทุกชนิดและทุกระยะในทุกส่วนของเนื้อเยื่อฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. (ตารางที่ 6 และรูปที่ 49) โดยมีเซลล์สืบพันธุ์ระยะ more developed oocyte มากที่สุดประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ทั้งหมดที่พบในแต่ละส่วนของเนื้อเยื่อ รองลงมาเป็นเซลล์สืบพันธุ์ระยะ fully developed oocyte ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์และ spermatocyst มีจำนวนน้อยที่สุดประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำมาหาค่าแตกต่างระหว่างจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ที่มีในแต่ละส่วนของเนื้อเยื่อ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (One way ANOVA) พบว่าเนื้อเยื่อแต่ละส่วนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. สุ่มแยกส่วนของเนื้อเยื่อจากบริเวณกองหินส้มป็นย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 (จำนวนเซลล์ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

| | เนื้อเยื่อส่วน FI | เนื้อเยื่อส่วน En | เนื้อเยื่อส่วน Ec | เนื้อเยื่อส่วน Tp |
|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| spermatocyst | 400 | 20 | 80 | 80 |
| early developed oocyte | 4720 | 13040 | 8640 | 4560 |
| more developed oocyte | 57200 | 80640 | 41440 | 41520 |
| fully developed oocyte | 37600 | 32880 | 25200 | 31680 |
| early developed embryo | 7280 | 4480 | 6800 | 12160 |
| more developed embryo | 2800 | 1440 | 3440 | 8720 |
| fully developed embryo | 1040 | 3440 | 2240 | 3920 |



รูปที่ 49 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์สืบพันธุ์แต่ละชนิดในส่วนของเนื้อเยื่อฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

FI = flower part Tp = Tip part Ec = Ectosomal skeleton

En = Endosomal skeleton

4. การเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในรอบปี

การศึกษาการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ ได้ศึกษาเซลล์สืบพันธุ์ทุกเดือนในช่วงเวลาเดียวกัน พบว่าฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีวงจรการสืบพันธุ์ (reproductive cycle) เริ่มจากพบไข่ได้ในเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายนโดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนถึงเดือนมิถุนายนและเริ่มลดลงหลังจากพบสเปิร์มในเดือนเมษายนและเริ่มพบเอ็มบริโอได้ในเดือนเดียวกันและเอ็มบริโอมีปริมาณมากขึ้นสูงสุดในเดือนมิถุนายน (ตารางที่ 7 และรูปที่ 50 และ 51) ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาตัวอ่อนในมวลน้ำแต่คาดว่าจะมีตัวอ่อนในมวลน้ำได้ในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม สรุปวงจรการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ได้ตามรูปที่ 52

- เซลล์ไข่ระยะเริ่มเจริญ (Early developed oocyte) พบได้ในเดือนมกราคม ถึงเดือนมิถุนายน พบได้มากที่สุดในเดือนมีนาคม พ.ศ.2547 มี 14,320 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) รองลงมาในเดือนมกราคม พ.ศ.2547 มี 6,000 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ส่วนในเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 พบเซลล์ไข่ระยะที่เริ่มเจริญน้อยที่สุดมี 1,360 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

- **เซลล์ไข่ระยะที่เจริญมากขึ้น (More developed oocyte)** พบได้ในเดือนมกราคม ถึงเดือนมิถุนายน พบได้มากที่สุดในเดือน เมษายน พ.ศ.2547 มี 70,080 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) รองลงมาในเดือน มีนาคม พ.ศ.2547 มี 53,600 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ส่วนในเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 พบเซลล์สืบพันธุ์ระยะที่เจริญมากขึ้นมี 320 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

- **เซลล์ไข่ระยะที่เจริญเต็มที่ (Fully developed oocyte)** พบได้ในเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน พบได้มากที่สุดในเดือนเมษายน มีค่า 45,600 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) รองลงมาในเดือน พฤษภาคม พ.ศ.2547 มี 33,440 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ส่วนในเดือนมกราคม พ.ศ.2547 พบเซลล์สืบพันธุ์ระยะที่เจริญเต็มที่ได้น้อยที่สุดมี 2,640 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

- **สเปิร์มและถุงสเปิร์ม (Spermatic cyst and Sperms)** พบได้ในเดือนเมษายน ถึงเดือนกรกฎาคม พบถุงสเปิร์มได้มากที่สุดในเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 มีค่า 320 ถุง (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) รองลงมาในเดือนกรกฎาคม พ.ศ.2546 มี 160 ถุง (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ส่วนในเดือนเมษายน พ.ศ.2547 พบถุงสเปิร์มน้อยสุดมี 20 ถุง (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

- **เอ็มบริโอระยะเริ่มเจริญ (Early developed embryo)** พบได้ในเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน พบได้มากที่สุดในเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 มี 16,720 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) รองลงมาในเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2547 มี 12,320 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ส่วนในเดือนเมษายน พ.ศ.2547 มีจำนวนเอ็มบริโอระยะเริ่มเจริญได้น้อยสุด มี 1,680 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

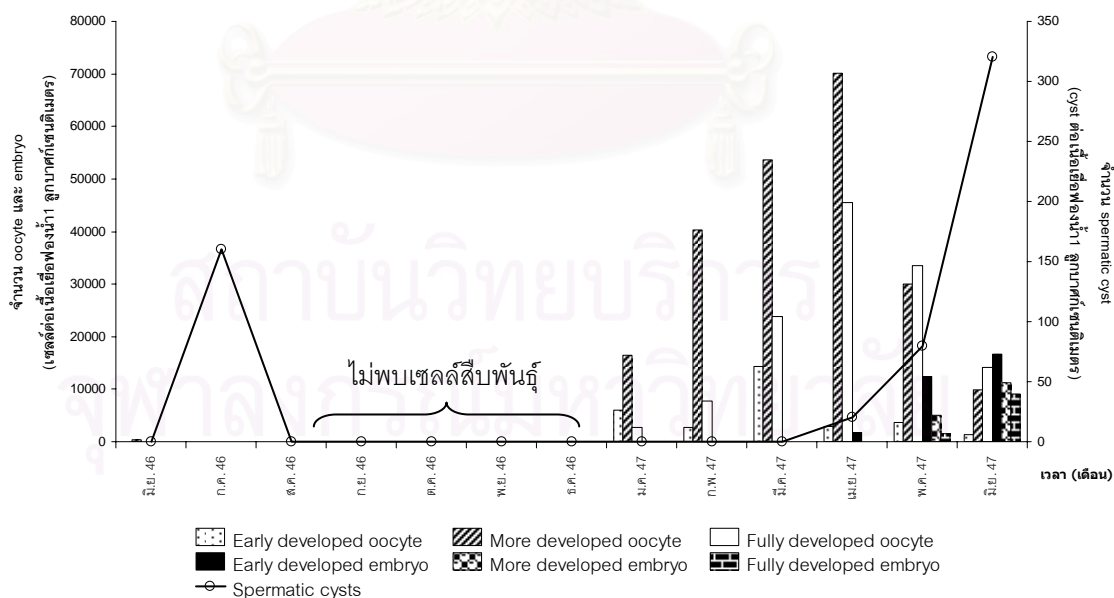
- **เอ็มบริโอระยะที่เจริญมากขึ้น (More developed embryo)** พบได้ในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน มีค่ามากที่สุดในเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 มีค่า 11,280 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) และรองลงมาในเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2547 มี 5,120 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

- **เอ็มบริโอระยะที่เจริญเต็มที่ (Fully developed embryo)** พบได้ในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน มีค่ามากที่สุดในเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 มีค่า 9,040 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อฟองน้ำ 1

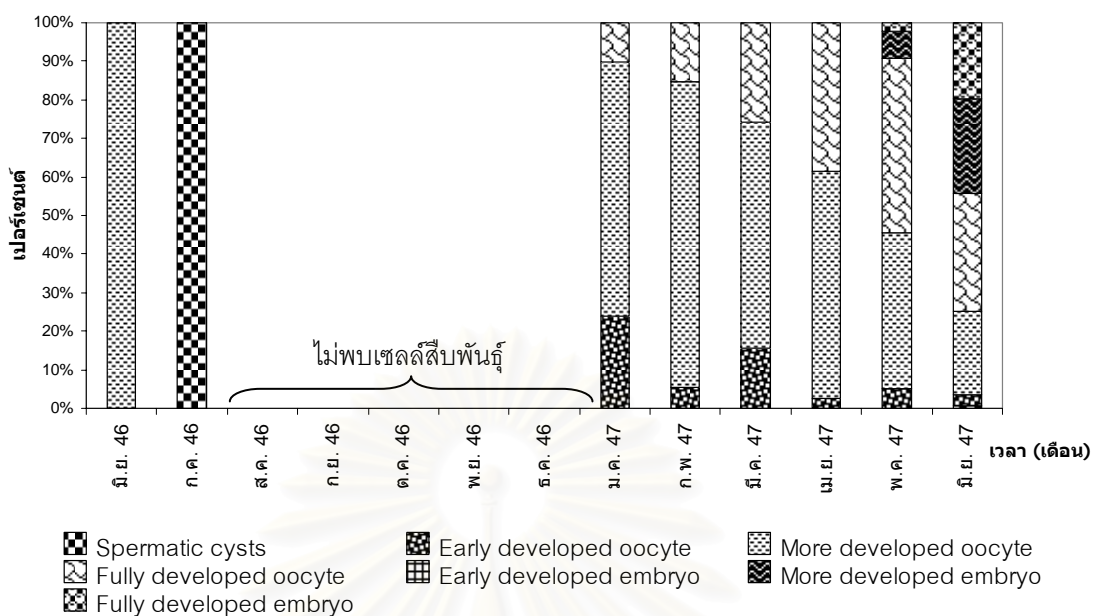
ลูกบาศก์เซนติเมตร) และรองลงมาในเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2547 มี 1,600 เซลล์ (ต่อเนื้อเยื่อ ฟองน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

ตารางที่ 7 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.บริเวณกองหินสัมปन्नีย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 (เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)

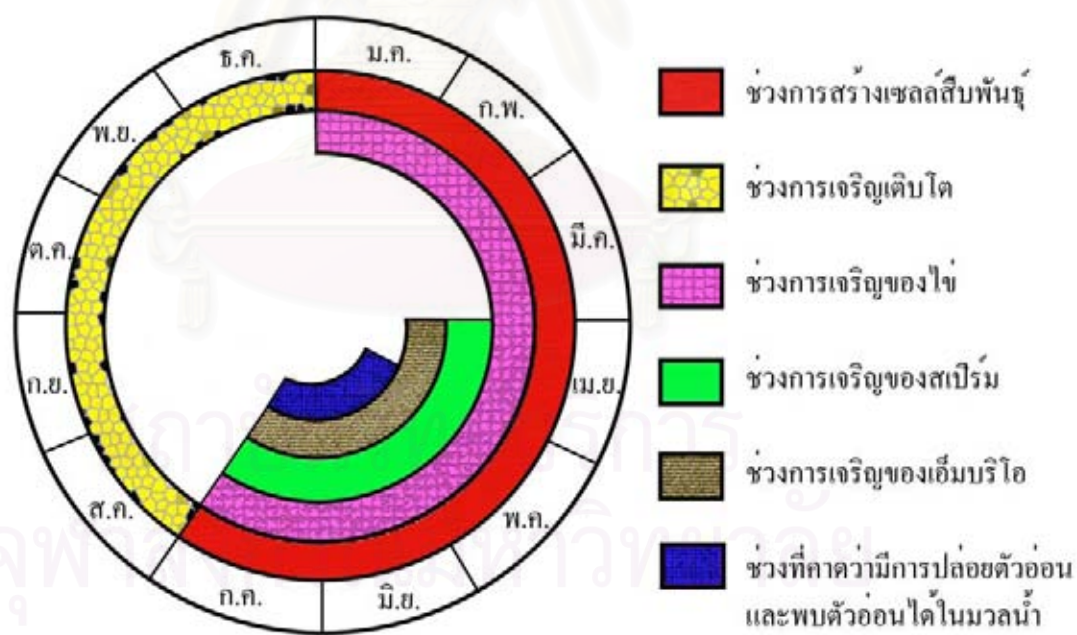
| ระยะของเซลล์สืบพันธุ์ | มิ.ย.46 | ก.ค.46 | ส.ค.46 | ก.ย.46 | ต.ค.46 | พ.ย.46 | ธ.ค.46 | ม.ค.47 | ก.พ.47 | มี.ค.47 | เม.ย.47 | พ.ค.47 | มิ.ย.47 |
|------------------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|---------|
| Spermatic cyst | 0 | 160 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 80 | 320 |
| Early developed oocyte | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6000 | 2800 | 14320 | 2880 | 3600 | 1360 |
| More developed oocyte | 320 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16560 | 40320 | 53600 | 70080 | 30080 | 9840 |
| Fully developed oocyte | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2640 | 7840 | 23760 | 45600 | 33440 | 14080 |
| Early developed embryo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1680 | 12320 | 16720 |
| More developed embryo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5120 | 11280 |
| Fully developed embryo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1600 | 9040 |



รูปที่ 50 จำนวนเซลล์และระยะการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในรอบปี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547



รูปที่ 51 อัตราส่วนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในรอบปี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547



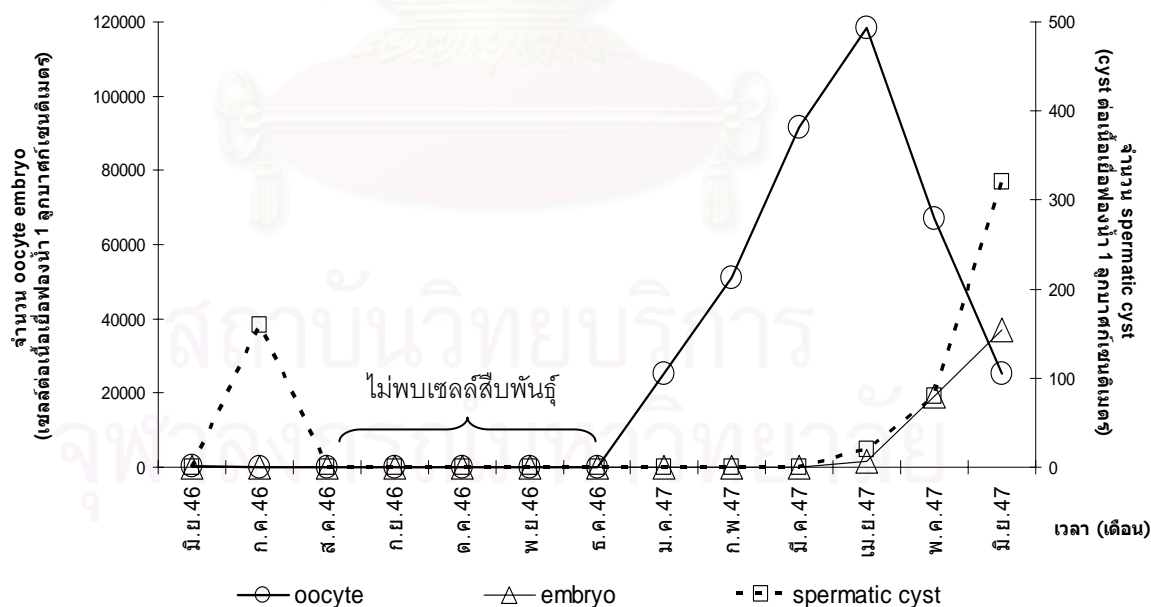
รูปที่ 52 วงจรการสืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในรอบปี

จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์สืบพันธุ์แต่ละชนิด พบว่าการเพิ่มขึ้นของ ไข่สเปิร์ม มีความสัมพันธ์กับปริมาณเอ็มบริโอคือเมื่อ ไข่สเปิร์ม มีค่าเพิ่มขึ้นปริมาณเอ็มบริโอมีค่าเพิ่มขึ้น สัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนจำนวนเซลล์สืบพันธุ์คู่นั้นไม่มีความสัมพันธ์ กันทางสถิติ (ตารางที่ 8 และ รูปที่ 53)

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. แต่ละชนิด บริเวณกองหินส้มป้าน้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือน มิถุนายน พ.ศ.2547

| ชนิดเซลล์สืบพันธุ์ | ค่าสหสัมพันธ์ (r) | | |
|--------------------|-------------------|----------|----------------|
| | จำนวนไข่สเปิร์ม | จำนวนไข่ | จำนวนเอ็มบริโอ |
| จำนวนไข่สเปิร์ม | 1 | 0.075 | 0.538* |
| จำนวนไข่ | 0.075 | 1 | 0.062 |
| จำนวนเอ็มบริโอ | 0.538* | 0.062 | 1 |

หมายเหตุ: * มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 53 ชนิดและปริมาณเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในรอบปี ระหว่างเดือน มิถุนายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

5. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในธรรมชาติ

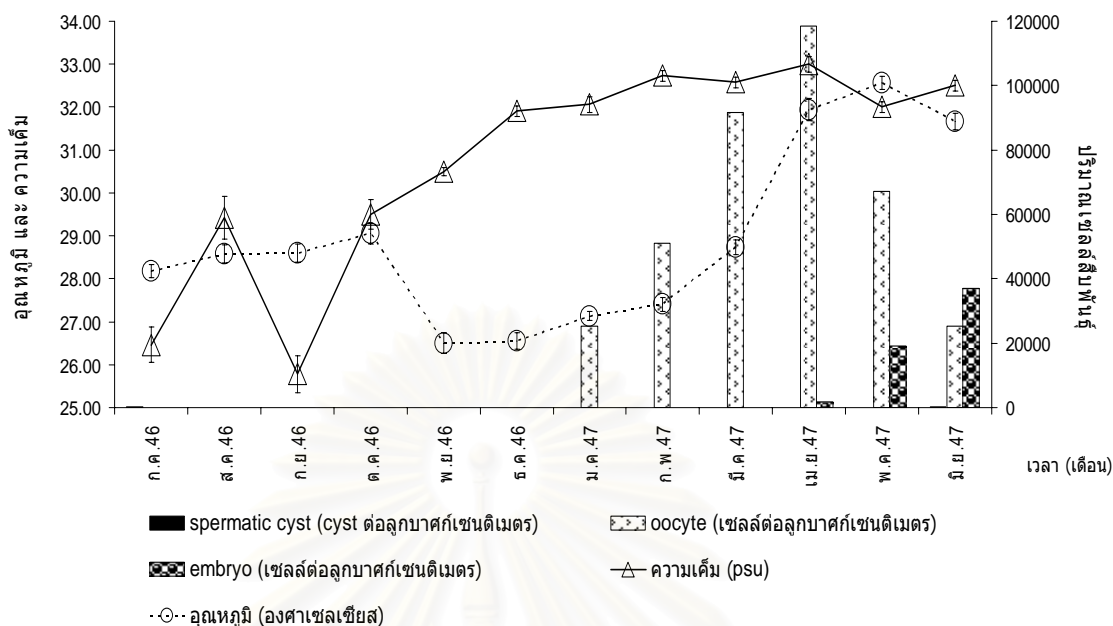
จากการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมและปริมาณเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง มิถุนายน พ.ศ.2547 ในรอบปีสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ช่วง คือช่วงที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในเดือนมกราคม ถึง กรกฎาคม และช่วงที่ไม่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในเดือนสิงหาคมถึงเดือนธันวาคมและได้มีการวิเคราะห์หาค่าความสัมพันธ์ทางสถิติ ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับชนิดและจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

จากการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; r) ระหว่างปริมาณเซลล์สืบพันธุ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อม พบว่าอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับเซลล์สืบพันธุ์ทุกชนิดไปในทิศทางเดียวกันคือเมื่ออุณหภูมิมีค่ามากขึ้นพบว่าจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำมีค่ามากขึ้นตามไปด้วย สัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนความเค็มมีความสัมพันธ์กับปริมาณไข่ไปในทิศทางเดียวกันคือเมื่อความเค็มสูงขึ้นพบปริมาณไข่สูงขึ้นสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนความเค็มกับจำนวนถุงเปรี๊มและจำนวนเอ็มบริโอพบว่าไม่สัมพันธ์กันทางสถิติ (ตารางที่ 9 และรูปที่ 54)

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินส้มป็น้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

| ปัจจัยสิ่งแวดล้อม | ค่าสหสัมพันธ์ (r) | | |
|-------------------|-------------------|----------|----------------|
| | จำนวนถุงเปรี๊ม | จำนวนไข่ | จำนวนเอ็มบริโอ |
| อุณหภูมิ | 0.292* | 0.292* | 0.469* |
| ความเค็ม | 0.026 | 0.441* | 0.180 |

หมายเหตุ: * มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

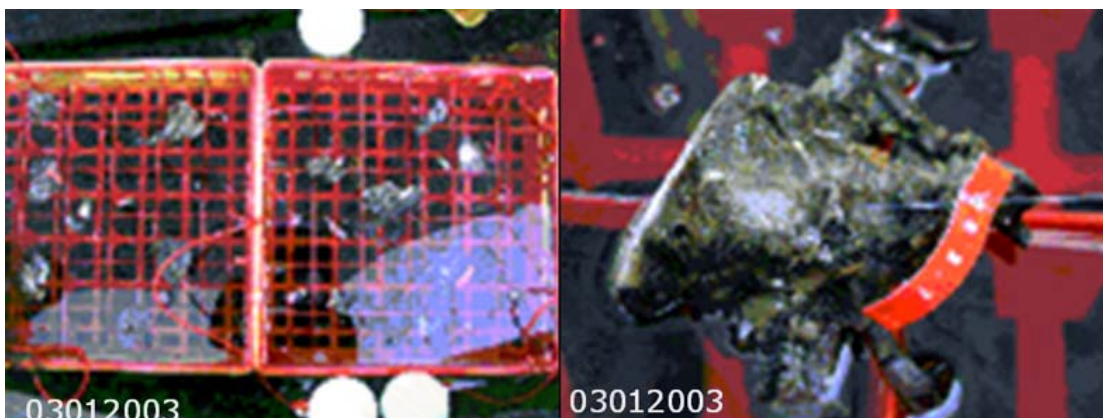


รูปที่ 54 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมลุ่มกับจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินส้มป็น้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

การเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

1. การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เบื้องต้น

ทดลองเลี้ยงฟองน้ำเบื้องต้นจำนวน 32 โคโลนี น้ำหนักเริ่มต้นตั้งแต่ 7.2 กรัมถึง 102 กรัม โดยแบ่งเป็น 2 ช่วงคือ ช่วงแรก 5 เดือนเลี้ยงในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อA) และ ช่วงที่สอง 6 เดือน เลี้ยงในบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อB) เพื่อวัตถุประสงค์การเติบโตสุทธิ และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของฟองน้ำ ในช่วง 1 ถึง 3 เดือนแรกฟองน้ำที่เลี้ยงในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อA) มีการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาทดแทนส่วนที่ถูกตัดออกไปโดยเฉพาะส่วนของเนื้อเยื่อส่วนผิวหนังด้านนอก (ectosomal skeleton) ที่มีเม็ดสีสีดำอยู่โดยมีการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาทดแทนและปิดเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นส่วนสีขาวด้านใน (endosomal skeketon) ทำให้เห็นเป็นสีดำทั้งโคโลนี รูปที่ 55 และ รูปที่ 56



รูปที่ 55 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เริ่มการทดลองเลี้ยงในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อA)



รูปที่ 56 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. หลังเลี้ยงได้ 3 เดือนในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อA)

ในเดือนที่ 4 ในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อA) เกิดการ bloom ของสาหร่ายที่ผิวน้ำของบ่อเลี้ยงทำให้ไปบดบังแสงและสาหร่ายบางส่วนมีการตายและตกลงไปทับถมบนโคโลนีฟองน้ำ นอกจากนั้นมีฟองน้ำชนิดอื่นมาเกาะและเจริญเติบโตเคลือบทับฟองน้ำชนิดที่กำลังศึกษา (รูปที่ 57) หลังจากนั้นได้แกะฟองน้ำชนิดอื่นที่เกาะเคลือบทับฟองน้ำที่กำลังศึกษาอยู่ออกและเลี้ยงต่อในเดือนที่ 5 พบว่ายังเกิดปัญหาเดิม จากการวัดค่าปัจจัยสิ่งแวดล้อม ในบ่อรวมน้ำพบว่ามีความเค็มไม่เนี่ยสูงกว่าน้ำในบ่อเลี้ยงในระบบเลี้ยงประมาณ 2 เท่าซึ่งคาดว่าจะสาเหตุให้เกิดการ bloom ของสาหร่ายและการเจริญของฟองน้ำชนิดอื่นทับฟองน้ำที่ศึกษา ในเดือนที่ 6 จึงได้ย้ายฟองน้ำมาเลี้ยงต่อบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อB)



รูปที่ 57 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. หลังเลี้ยงได้ 4 เดือน ในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อA)

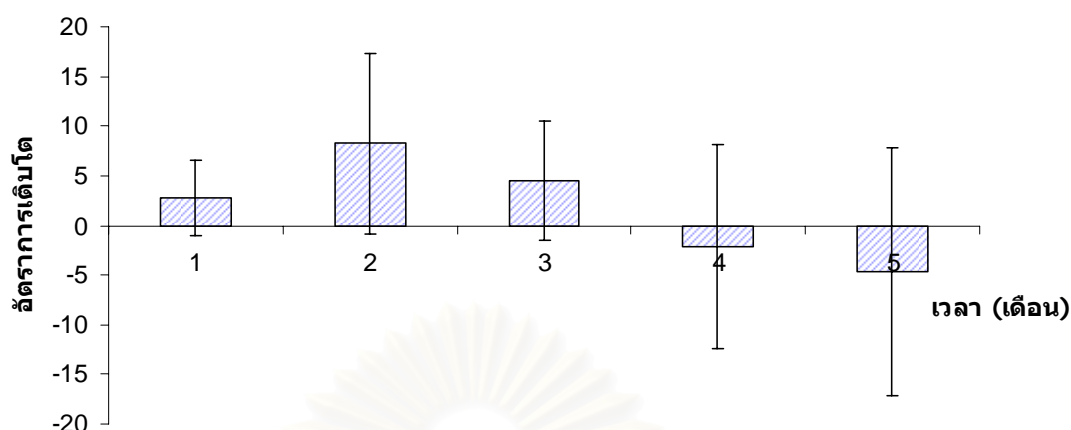
ในเดือนที่ 3 ที่เลี้ยงในบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อB) ฟองน้ำเริ่มตายและในโคโลนีที่ยังไม่ตายได้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยการแตกแขนงคล้ายรากไม้ และเนื้อเยื่อของฟองน้ำบางโคโลนีเริ่มเปื่อยยุ่ยและหลุดออกจากเอ็นที่ร้อยแขวนไว้ (รูปที่ 58)



รูปที่ 58 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. หลังเลี้ยงได้ 3 เดือนในบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อB)

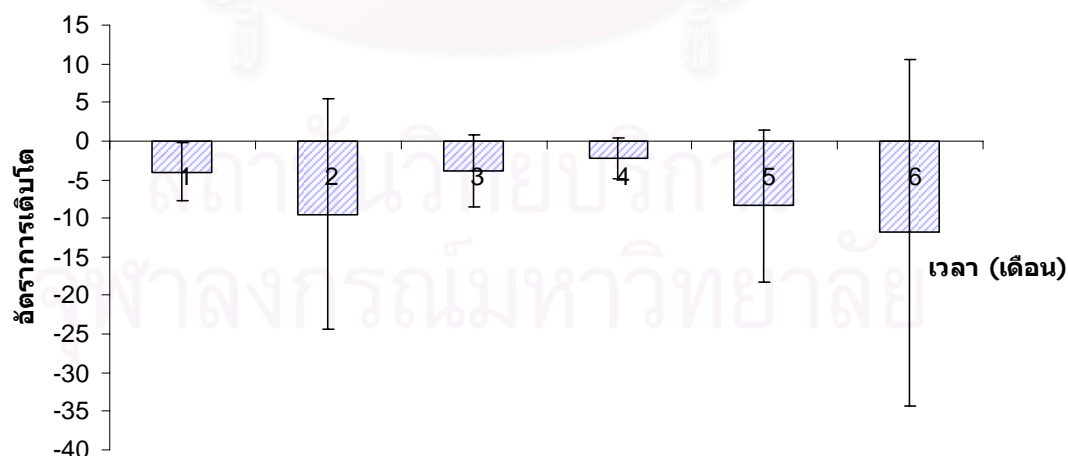
ในเดือนที่ 4 ถึงเดือนที่ 6 ในบ่อเลี้ยงในระบบเลี้ยง (บ่อB) ฟองน้ำมีการตายเพิ่มทุกเดือน จนถึงเดือนที่ 11 เหลือฟองน้ำอยู่ 10 โคโลนี จากฟองน้ำที่เริ่มต้นทดลอง 32 โคโลนี

อัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อA) ในเดือนที่ 1 ถึง เดือนที่ 3 มีอัตราการเติบโตสุทธิเป็นบวกโดยในเดือนที่ 2 มีอัตราการเติบโตสุทธิมากที่สุดคือ 8.25 กรัมต่อเดือน ส่วนในเดือนที่ 4 ถึงเดือนที่ 5 มีอัตราการเติบโตสุทธิเป็นลบ เดือนที่ 5 มีอัตราการเติบโตสุทธิน้อยที่สุดคือ - 4.69 กรัมต่อเดือน อัตราการเติบโตสุทธิเฉลี่ยตลอดการทดลอง มีค่า 1.74 กรัมต่อเดือน (รูปที่ 59)



รูปที่ 59 อัตราการเติบโตสุทธิเฉลี่ยของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ที่เลี้ยงในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อA) ระหว่างเดือนมกราคม ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2546

อัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำในบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อB) ทุกเดือนมีอัตราการเติบโตสุทธิเป็นลบในเดือนที่ 4 มีอัตราการเติบโตสุทธิมากที่สุด มีค่า -2.2 กรัมต่อเดือน ในเดือนที่ 6 มีอัตราการเติบโตสุทธิน้อยที่สุดมีค่า -11.89 กรัมต่อเดือน อัตราการเติบโตสุทธิเฉลี่ยตลอดการทดลอง มีค่า -6.65 กรัมต่อเดือน (รูปที่ 60)



รูปที่ 60 อัตราการเติบโตสุทธิเฉลี่ยของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ที่เลี้ยงในบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อB) ระหว่างเดือน มิถุนายนถึง พฤศจิกายน พ.ศ.2546

2. การทดลองเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน

หลังจากสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงเบื้องต้นได้ออกแบบการทดลองเพิ่ม 1 ชุดการทดลองโดยเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เปรียบเทียบกัน 3 บ่อที่มีปัจจัยสิ่งแวดล้อมแตกต่างกัน คือบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อC) บ่อในระบบเลี้ยง (บ่อD) และบ่อเก็บน้ำดิบก่อนเข้าระบบกรอง (บ่อE) ในช่วงเวลาเดียวกันเพื่อเปรียบเทียบและดูสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเติบโตของฟองน้ำ โดยทดลองเลี้ยงฟองน้ำบ่อละ 6 โคโลนี แต่ละโคโลนีน้ำหนักเริ่มต้นมากกว่า 100 กรัม (รูปที่ 61) ใช้เวลาเลี้ยง 4 เดือน สรุปการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของฟองน้ำในรูปกราฟน้ำหนักสะสมตามรูปที่ 62

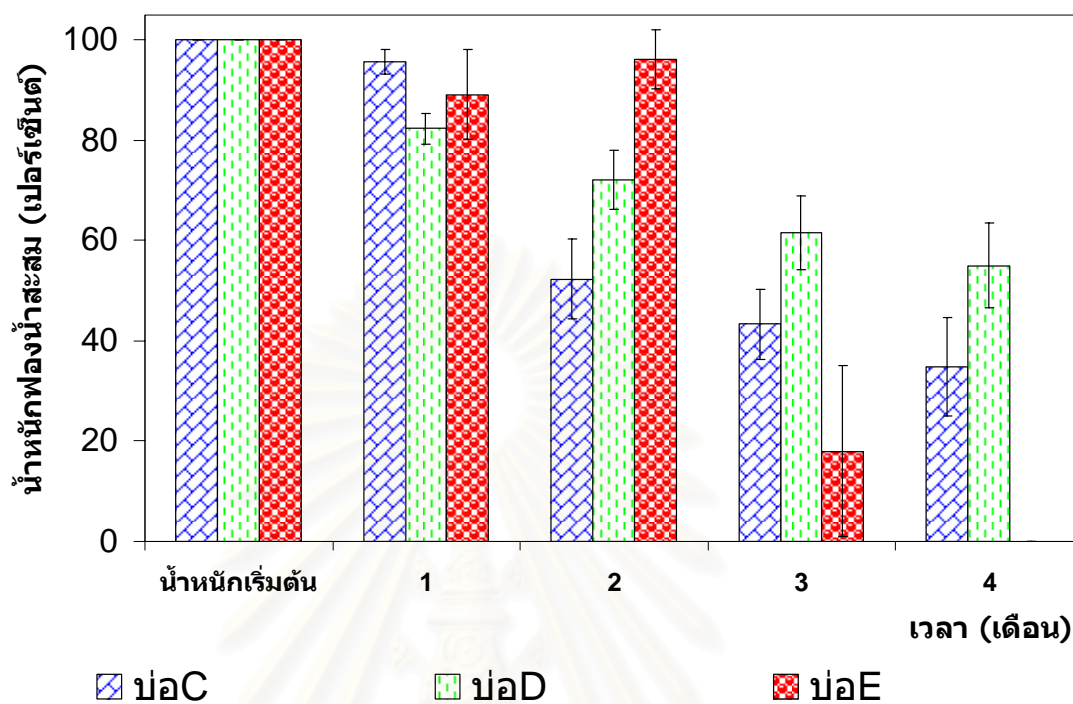
ฟองน้ำในบ่อ C (รูปที่ 63) ฟองน้ำหลังจากเลี้ยงไปได้ 2 เดือนพบว่าน้ำหนักลดเหลือประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ในเดือนที่ 3 และ 4 น้ำหนักฟองน้ำลดลงประมาณเดือนละ 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักของฟองน้ำในเดือนที่ 4 เหลือ 34.86 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเริ่มต้น

ฟองน้ำในบ่อ D (รูปที่ 64) ฟองน้ำที่เลี้ยงลดลงค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงที่เลี้ยงตั้งแต่เดือนที่ 2 เป็นต้นไปน้ำหนักลดลงประมาณเดือนละ 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักของฟองน้ำในเดือนที่ 4 เหลือ 55.02 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเริ่มต้น

ฟองน้ำในบ่อ E (รูปที่ 65) ฟองน้ำในบ่อนี้มีน้ำหนักลดลงในเดือนแรกและเพิ่มขึ้นมาในเดือนที่ 2 ต่อมาในเดือนที่ 3 น้ำหนักลดลงเหลือ 17.97 เปอร์เซ็นต์ และในเดือนสุดท้ายน้ำหนักลดลงเหลือ 0 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากฟองน้ำตายหมดทุกโคโลนี



รูปที่ 61 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในชุดการทดลองเลี้ยงในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน เริ่มต้นเลี้ยง

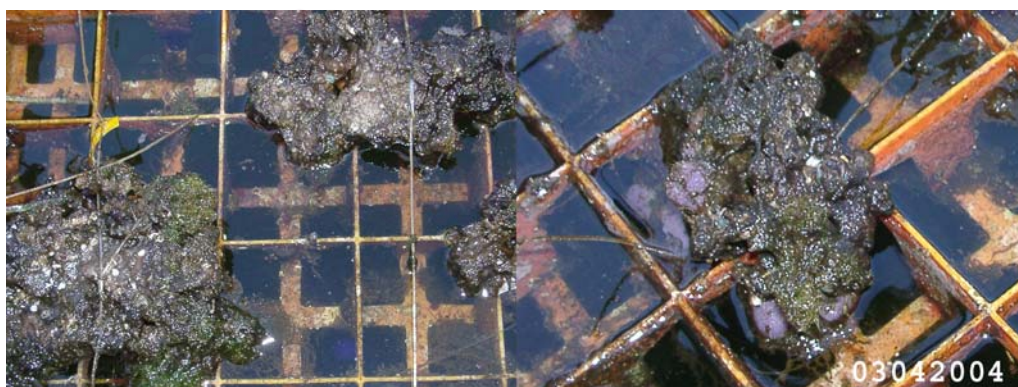


รูปที่ 62 น้ำนักสะสมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน

บ่อ C = บ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง

บ่อ D = บ่อในระบบเลี้ยง

บ่อ E = บ่อเก็บน้ำดิบก่อนเข้าระบบกรอง



รูปที่ 63 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อ C) ผ่านไป 2 เดือน



รูปที่ 64 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อD) ผ่านไป 2 เดือน



รูปที่ 65 ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อเก็บน้ำดิบก่อนเข้าระบบกรอง (บ่อE) ผ่านไป 2 เดือน

3. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่ออัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษปัจจัยสิ่งแวดล้อมของน้ำในบ่อเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเล ที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ.2546 ถึง มิถุนายน พ.ศ.2547 จากการวิเคราะห์ทางสถิติหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. พบว่าคุณภาพน้ำของทั้ง 3 บ่อมีค่าอุณหภูมิและปริมาณแอมโมเนีย แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 10) ดังมีรายละเอียดดังนี้

- บ่อ E อัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำในบ่อ E มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้ามกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมทุกตัวคือ เมื่อคือ อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลาย ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณไนเตรท ไนเตรท และปริมาณฟอสเฟต มีค่าเพิ่มขึ้นพบว่าอัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำมีแนวโน้มลดลง โดยปริมาณแอมโมเนียมีความสัมพันธ์กับอัตราการเติบโตสุทธิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนปัจจัยสิ่งแวดล้อมตัวอื่นไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ

ตารางที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมในบ่อเลี้ยง ที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| ปัจจัยสิ่งแวดล้อม | ค่าสหสัมพันธ์ (r) | | | | |
|---------------------|-------------------|--------|----------------|----------------|----------------|
| | A | B | C | D | E |
| อุณหภูมิ | -0.859 | -0.605 | 0.144 | 0.847 | -0.588 |
| ความเค็ม | 0.817 | -0.617 | 0.707 | -0.341 | -0.851 |
| ปริมาณออกซิเจนละลาย | -0.127 | -0.268 | . ^a | . ^a | . ^a |
| ปริมาณแอมโมเนีย | 0.741 | -0.064 | 0.074 | 0.728 | -0.961* |
| ปริมาณไนเตรท | 0.302 | -0.229 | 0.635 | -0.040 | -0.935 |
| ปริมาณไนเตรท | 0.358 | -0.296 | -0.381 | 0.910 | -0.901 |
| ปริมาณฟอสเฟต | 0.741 | 0.252 | -0.289 | 0.239 | -0.861 |

หมายเหตุ: ^a ข้อมูลไม่เพียงพอในการวิเคราะห์

* มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการศึกษา

ลักษณะของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

จากการศึกษาฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ด้วยตัวผู้วิจัยร่วมกับผู้เชี่ยวชาญด้านฟองน้ำในประเทศไทยสามารถจำแนกฟองน้ำชนิดนี้ได้ถึงระดับครอบครัว ลักษณะของฟองน้ำในครอบครัวนี้คือ มี spicule รูป Calthrope และ Oxea เป็นชนิดเด่น โดยสามารถจำแนกได้ถูกต้องเมื่อเทียบกับผลการจำแนกชนิดฟองน้ำจาก Queensland Museum ประเทศออสเตรเลียโดย Dr. John N. A. Hooper ผู้เชี่ยวชาญด้านฟองน้ำจำแนกชนิดฟองน้ำได้จนถึงระดับสกุล คือ *Pachastrissa* โดยฟองน้ำในสกุลนี้เป็น 1 ใน 4 สกุลในฟองน้ำครอบครัว Calthropellidae ซึ่งมีสมาชิกประมาณ 24 ชนิด ความซับซ้อนในการจำแนกฟองน้ำให้ถึงระดับชนิดนั้นต้องใช้ความชำนาญและประสบการณ์ในการจำแนกในส่วนของการเทียบสัดส่วนชนิดกับประมาณการกระจายของ spicule ทั้งขนาดใหญ่ (megascleres) และขนาดเล็ก (microscleres) รวมไปถึงต้องวัดขนาดความยาวส่วนต่างๆ ของ spicule ลักษณะของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ที่คล้ายกับฟองน้ำชนิดอื่นซึ่งทำให้สับสนในการจำแนกได้แก่ การมี spicule รูป Calthropes ที่ไม่มีการเปลี่ยนรูป (unmodified Calthrope) ทำให้คล้ายกับ spicule รูป Dichotriaenes ในฟองน้ำ Order Astrophorida เช่น สกุล *Erylus* ในครอบครัว Coppatiidae โดยต่างจากชนิดอื่น ๆ เท่าที่ Dr. Hooper ได้ศึกษามาโดยอาจจะจำแนกเป็นชนิดอื่นได้ ถ้าไม่ศึกษาให้ละเอียด (Hooper, 2002)

ลักษณะการกระจายและพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในธรรมชาติ

จากการศึกษาฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. บริเวณกองหินสัมป็นย้อย เกาะสีซัง จังหวัดชลบุรี พบว่าฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีการกระจายแบบ Clump ที่ระดับความลึก 6 – 7 เมตร ซึ่งสภาพปะการังบริเวณนี้เป็นกลุ่มประชาคมปะการัง (coral community) มีปะการังอยู่หลายชนิด ทั้งปะการังกิ่งเขากวาง ปะการังโขด ปะการังสมอง ปะการังอ่อน พรหมทะเล และฟองน้ำอีกหลายชนิด จากการศึกษานี้ของ Hooper (2002) พบว่าฟองน้ำในครอบครัว Calthropellidae มีการกระจายในเขตชายฝั่งไปจนถึงระดับความลึก 600 เมตร จากการศึกษานี้ของ Van Soest (1998) อ้างตาม Watanabe (1998) พบว่าฟองน้ำในครอบครัว Calthropellidae มีการกระจายในหลายเขตทั่วโลก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hooper (2002) ที่พบว่าฟองน้ำในครอบครัวนี้มีการกระจายในเขต North Atlantic, Mediterranean, South Africa, Western Indian Ocean, Indonesia และ New Zealand โดยจะพบกระจายได้ในเฉพาะเขตอบอุ่น

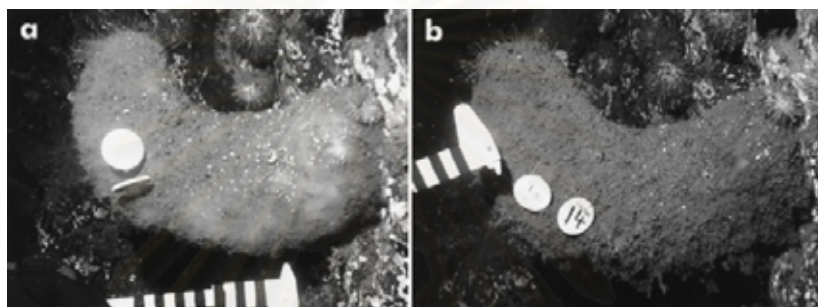
การวัดการเปลี่ยนแปลงหรืออัตราการเติบโตของฟองน้ำในการเพาะเลี้ยงโดยทั่วไป มีการวัดเป็นปริมาตร (volume) (Fronzato, R.1999) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงหรืออัตราการเติบโตจากปริมาตรที่เปลี่ยนไปแต่จากการศึกษาครั้งนี้ ศึกษาฟองน้ำในธรรมชาติซึ่งยึดเกาะอยู่กับพื้นผิว (substrate) และจากการที่ฟองน้ำมีรูปร่างไม่แน่นอนทำให้วัดการเติบโตในแนวระดับได้ยาก ประกอบกับฟองน้ำชนิดที่ศึกษาครั้งนี้มีการเติบโตในแนวราบมากกว่าจึงใช้การวัดภาพการเปลี่ยนแปลงในแนวราบเป็นตัวแทนการเติบโตของฟองน้ำ

จากการศึกษาครั้งนี้พบการ competition ระหว่างปะการังอ่อนกับฟองน้ำ จากการสังเกตภายใน quadrat ที่ 5 มีปะการังอ่อนเจริญขึ้นบริเวณขอบของ quadrat ด้านขวาและมีการแย่งพื้นที่ปกคลุมกับฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. โดยมีการเปลี่ยนแปลงสลับไปมาคือช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนตุลาคม พ.ศ.2546 ขอบเขตการขยายตัวของปะการังอ่อนจะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน และเริ่มรุกเข้ามาใน quadrat ในช่วงเดือนกันยายน พ.ศ.2546 ปะการังอ่อนมีการขยายอาณาเขตมาอยู่ร่วมกับฟองน้ำพบว่าฟองน้ำมีการเจริญแทรกอยู่กับปะการังอ่อนและอยู่ร่วมกันในเดือนกันยายน พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 เมื่อพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำลดลงปะการังอ่อนก็รุกเข้ามาในพื้นที่ได้มากขึ้น ส่วนใน quadrat อื่นไม่พบลักษณะการแก่งแย่งพื้นที่ครอบครองโดยสัตว์ชนิดอื่น

-ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

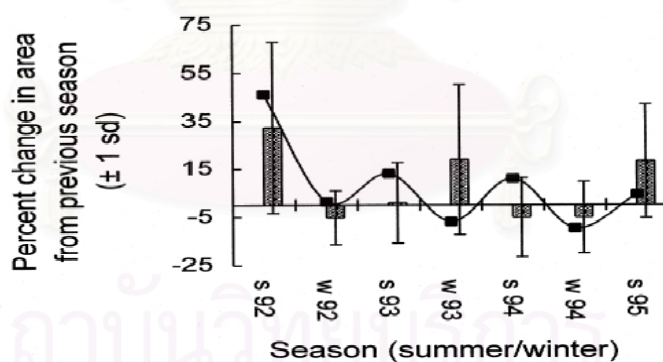
จากการวัดภาพการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในตารางสี่เหลี่ยม (quadrat) ตารางที่ทำไว้บริเวณกองหินส้มปั้นย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี มีการเปลี่ยนแปลงโดยการลดและเพิ่มพื้นที่ปกคลุมในรอบปี เมื่อนำปัจจัยสิ่งแวดล้อมมาเขียนกราฟเพื่อศึกษาความสัมพันธ์พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมในรอบปีสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมแตกต่างกันในแต่ละช่วง จากการสังเกตเมื่ออุณหภูมิมีค่าต่ำกว่า 29 องศาเซลเซียสและความเค็มมีค่าต่ำกว่า 29 psu ส่งผลให้พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำลดลงแต่เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ทั้งปีแล้วพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ แต่เมื่อแยกหาความสัมพันธ์ในแต่ละช่วงพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมสัมพันธ์กับช่วงที่สิ่งแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันเช่น ช่วงที่มีความเค็มเปลี่ยนแปลงมาก ได้แก่ช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ.2546 จากการศึกษาของ Macmillan ในปี ค.ศ.1996 (อ้างตาม Osinga, 1999) พบว่าฟองน้ำที่เลี้ยงบริเวณปากแม่น้ำจะได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มสูง และช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมากเป็นช่วงรอยต่อระหว่างฤดูในเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2546 และการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมสัมพันธ์กับกิจกรรมของโคโลนีฟองน้ำได้แก่ช่วงที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนส่งผลทำให้พื้นที่ปกคลุมลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ

การศึกษาของ Leys และ Lauzon ในปี ค.ศ. 1998 ที่ทำการศึกษากการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Rhabdocalyptus dawsoni* (รูปที่ 66) ในประเทศแคนาดา ที่ความลึกสูงสุด 220 เมตร พบว่ามีการลดลงและเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อส่วนผิวด้านนอก (outer spicule coat) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงที่มีการเปลี่ยนฤดูกาลระหว่างฤดูร้อนและฤดูหนาว โดยอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส จากการศึกษาตั้งแต่ปี 1992 ถึงปี 1995 และติดตามตลอดระยะเวลา 4 ปี พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ปกคลุมตามช่วงฤดูกาลโดยในฤดูร้อนจะมีเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นและในฤดูหนาวเนื้อเยื่อจะลดลง เนื้อเยื่อที่หายไปมีผลให้พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำลดลงตามไปด้วย (รูปที่ 67)



รูปที่ 66 ฟองน้ำ *Rhabdocalyptus dawsoni* เปรียบเทียบ a. ในฤดูหนาว b. ในฤดูร้อน

Leys and Lauzon (1998)



รูปที่ 67 การเปลี่ยนแปลงพื้นที่ของฟองน้ำ *Rhabdocalyptus dawsoni* ในรอบ 4 ปี

Leys and Lauzon (1998)

จากการศึกษาในฟองน้ำ *Lissodendoryx isodactylis* โดย Fell ในปี ค.ศ. 1984 (อ้างตาม Harrison, 1991) พบว่าในฤดูหนาว จำนวน choanocyte chamber และระบบท่อน้ำในเนื้อเยื่อมีจำนวนลดน้อยลง และจากการศึกษาในฟองน้ำ *Cliona celata* โดย Well ในปี ค.ศ. 1964 (อ้างตาม Harrison, 1991) พบว่าในฤดูหนาวระบบท่อน้ำจะไม่มี การลดลงแต่จะมีการลดขนาดให้เล็กลง จากการศึกษาในฟองน้ำน้ำจืด *Anheteromeyenia ryderi* โดย Blazer and Fell ในปี ค.ศ. 1986 (อ้างตาม Harrison, 1991) พบว่าในช่วงฤดูหนาวระบบท่อน้ำ (oscles) และ choanocyte

chamber จะหายไปและจำนวนของ phagosomes ใน archaeocyte เพิ่มขึ้น Simpson ในปี ค.ศ. 1968 และ Fell ในปี ค.ศ.1984 (อ้างตาม Fell, 1993) มีการศึกษาสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมและผลที่เกิดขึ้นกับฟองน้ำพบว่าเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมฟองน้ำจะเข้าสู่ระยะการลดขนาด โดยจะเกิดกับบริเวณผิวที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อม โดยที่ผิวของฟองน้ำจะลดรูปและจะถูกปกคลุมด้วยสาหร่ายและตะกอนซึ่งเมื่อสังเกตจากภายนอกอาจคิดว่าฟองน้ำนั้นตายแล้วแต่เมื่อสภาพแวดล้อมเข้าสู่สภาวะที่เหมาะสม เนื้อเยื่อที่ผิวจะมีการสร้างขึ้นใหม่และตะกอนที่ทับถมรวมทั้งสาหร่ายที่คลุมทับหายไป ซึ่งมีลักษณะคล้ายกันกับการศึกษาครั้งนี้และอาจอธิบายที่สาเหตุของพื้นที่ปกคลุมลดลงและเพิ่มขึ้นได้

จากการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของ silica ในน้ำทะเลที่อยู่ในรูป silicon dioxide (SiO_2) โดย Mercurio (2000) พบว่าปริมาณ SiO_2 ในน้ำทะเลมีความสัมพันธ์กับความเค็มคือเมื่อความเค็มสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นของ SiO_2 ในน้ำทะเลสูงขึ้นด้วย ความเข้มข้นของ SiO_2 ในน้ำ ส่งผลต่อการสร้าง spicule ของฟองน้ำ เมื่อในน้ำทะเลมีความเข้มข้นของ SiO_2 สูง ฟองน้ำก็สามารถนำมาสร้าง spicule ได้มากซึ่งจะทำให้ฟองน้ำขยายขนาดขึ้นได้ ในทางตรงกันข้ามถ้าปริมาณความเข้มข้นของ SiO_2 ในน้ำทะเลมีน้อยฟองน้ำก็ไม่สามารถสร้าง spicule ได้ซึ่งก็สัมพันธ์กับผลการศึกษาในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ครั้งนี้พบว่าฟองน้ำมีแนวโน้มที่จะลดขนาดลงดูได้จากพื้นที่ปกคลุมลดลงในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2546 ถึงเดือนมกราคม 2547 ซึ่งตรงกับช่วงที่อุณหภูมิ น้ำทะเลลดต่ำสุดในรอบปี ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคมเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิสูงจากความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและปริมาณ SiO_2 ต่อการเติบโตของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในการศึกษาครั้งนี้มีแนวโน้มทำให้ขนาดโคโลนีใหญ่ขึ้นมีพื้นที่ปกคลุมมากขึ้น แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าในเดือนกันยายน 2546 พื้นที่ปกคลุมลดลง เมื่อวิเคราะห์จากปัจจัยกายภาพที่คาดว่าจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำพบว่าปริมาณน้ำฝนซึ่งในเดือนกันยายน 2546 มีปริมาณฝน 211 ± 36.76 มิลลิเมตร ซึ่งเมื่อเทียบกับเดือนสิงหาคมและเดือนตุลาคม 2546 ที่มีปริมาณฝน 68 ± 6.27 และ 145 ± 10.41 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่งผลทำให้ความเค็มลดลงอย่างกะทันหัน ความเค็มเฉลี่ยในเดือนสิงหาคม พ.ศ.2546 อยู่ที่ 29.43 ± 0.5 psu เป็น 25.78 ± 0.43 psu ในเดือนกันยายน พ.ศ.2546 จากการศึกษาในฟองน้ำ *Hippospongia lacne* สามารถทนความเค็มได้สูงถึง 46 psu แต่จะตายทันทีที่ความเค็มต่ำกว่า 26 psu Macmillan ในปี ค.ศ.1996 (อ้างตาม Osinga, 1999) รายงานว่าฟองน้ำทะเลมีความสามารถทนต่อความเค็มสูงได้มากกว่าความเค็มต่ำ ดังนั้นความเค็มที่ลดลงน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ฟองน้ำมีพื้นที่ปกคลุมลดลงได้ บางส่วนของโคโลนีตายลงเนื่องจากทนการเปลี่ยนแปลงความเค็มไม่ได้ ส่วนที่เหลือเมื่อความเค็มสูงขึ้นเป็น 29.50 ± 0.35 psu ในเดือนตุลาคม พ.ศ.2546 มีการเพิ่มจำนวนเซลล์และสร้าง spicule เพิ่มทำให้พื้นที่ปกคลุมเพิ่มขึ้นได้อีกครั้ง

ปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่อพื้นที่ปกคลุมในเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมิถุนายน 2547 ก็คือ ปัจจัยภายในตัวของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. จากการศึกษาเนื้อเยื่อและเซลล์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ที่เก็บจากธรรมชาติบริเวณเดียวกับที่ศึกษาพื้นที่ปกคลุม พบเซลล์ไขและเอ็มบริโอในเนื้อเยื่อฟองน้ำตั้งแต่เดือนมกราคม ถึง เดือนมิถุนายน 2547 โดยพบไขและเอ็มบริโอ มากสุดในเดือนเมษายน 2547 โดยปกติในช่วงที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ฟองน้ำจะไม่มี การเติบโต ไม่มีการสร้าง spicule หรือลดการสร้างซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Frohlich และ Barthel (1997) พบว่าอัตราการ uptake SiO_2 ในฟองน้ำ *Halichondria panacea* ช่วงที่ฟองน้ำมีการสร้างเซลล์ สืบพันธุ์มีค่าลดลงจากช่วงปกติและจากการศึกษาของ Ereskovsky (2000) ในฟองน้ำ *Halisarca dujadini* บริเวณ White sea ประเทศรัสเซีย พบว่าไขของฟองน้ำจะมีปริมาณประมาณ 69.5 % ของเนื้อเยื่อฟองน้ำทั้งหมด และช่วงนี้ระบบท่อน้ำและ Choanocyte chamber ทำงานผิดปกติ เนื่องจากเนื้อเยื่อถูกแทนที่ด้วยไขทำให้ระบบท่อน้ำแคบลงทำงานได้ลดลงทำให้อัตราการเติบโต ลดลงด้วย

จำนวนแพลงก์ตอนพืชรวม จำนวนแพลงก์ตอนกลุ่มไดอะตอม และจำนวนแพลงก์ตอน กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับอัตราการเปลี่ยนแปลงของ พื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาของ Osinga (1999) ทำการ เลี้ยงฟองน้ำ *Halichondria panacea* และ *Pseudosuberites andrewsi* ในห้องปฏิบัติการมีการ ให้อาหารเป็นแพลงก์ตอนพืชหลายชนิดเช่น *Dunaliella* sp. *Thalassiosira weissflogii*, *Tetraselmis suecica*, *Chlorella sorokiniana* ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มของสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีน้ำตาล และไดอะตอมขนาดเล็กพบว่าสามารถเลี้ยงฟองน้ำทั้งสองชนิดได้เป็นเวลานาน จึงคิดว่าปริมาณแพลงก์ตอนพืชในธรรมชาติกลุ่มที่มีขนาดเล็กกว่าช่องน้ำเข้า (ostium) ของ ฟองน้ำน่าจะเป็นอาหารของฟองน้ำได้ ในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีขนาดของช่องน้ำเข้า ประมาณ 50 μm . จากการศึกษาขนาดของแพลงก์ตอนกลุ่มที่มีขนาดเล็กกว่า 50 μm . และมี ปริมาณมากซึ่งได้แก่ *Chaetoceros* sp. *Skeletonema* sp. และ *Oscillatoria* sp. พบว่าอัตราการ เปลี่ยนแปลงพื้นที่ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. สัมพันธ์กับจำนวนของแพลงก์ตอน โดย *Chaetoceros* sp. และ *Skeletonema* sp. มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน ส่วน *Oscillatoria* sp. มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

โดยสรุปแล้วอัตราการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำเกิดจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม หลายปัจจัยร่วมกัน โดยฟองน้ำมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีการ เปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลัน ทั้งอุณหภูมิและความเค็ม เมื่อปัจจัยสิ่งแวดล้อมปัจจัยไหนมีการ เปลี่ยนแปลงฉับพลันฟองน้ำก็จะมี การเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมตามปัจจัยสิ่งแวดล้อมนั้นเป็น หลักส่วนปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นเป็นปัจจัยเสริม รวมไปถึงปัจจัยชีวภาพทั้งภายในฟองน้ำเองได้แก่

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอื่นได้แก่ การ competition ระหว่างสิ่งมีชีวิตอื่นที่อยู่ในบริเวณเดียวกัน รวมไปถึงการถูกกินโดยสิ่งมีชีวิตอื่น มีสัตว์บางชนิดที่สามารถกินฟองน้ำเป็นอาหารได้เช่น ทากเปลือย *Peltodoris atromacula* จะกินฟองน้ำ *Petrosia* spp. และฟองน้ำ *Haliclona fulva*. (Gemballa and Schermutzki, 2004) และดาวทะเล *Henricia sanguinolenta* (O.F. Müller) จะกินฟองน้ำ *Isodictya* spp. (Shield and Witman, 1998) เป็นต้น

ในการศึกษาครั้งนี้ยังไม่ได้ศึกษาในรายละเอียดของการ competition ระหว่างสิ่งมีชีวิตอื่นและการติดตามการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ปกคลุมไม่ได้ศึกษาในส่วนลึกลงไปเนื้อเยื่อฟองน้ำ โดยดูแต่ผิวนอก ซึ่งความเป็นจริงได้ผิวลงไปก็คิดว่าฟองน้ำตายอาจจะมีชีวิตอยู่ เหมือนกับผลการศึกษาของ Ley and Lauzon ในปี ค.ศ.1998 และพื้นที่ quadrat ที่ติดตามผลการเปลี่ยนแปลงอาจไม่เพียงพอ และใช้เป็นตัวแทนอธิบายภาพรวมของประชากรไม่ได้ทั้งหมดแต่จากการศึกษาครั้งนี้คิดว่าสามารถอธิบายสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำได้ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ อีก 20 เปอร์เซ็นต์ที่อธิบายไม่ได้อาจเกิดการ competition และอาจถูกกินหรือถูกรบกวนโดยสิ่งมีชีวิตอื่น และพื้นที่บางส่วนที่ฟองน้ำยังมีชีวิตอยู่ได้เนื้อเยื่อด้านบนที่ตายไปและถูกทับถมด้วยตะกอนซึ่งต้องศึกษาเพิ่มเติม ส่วนการส่องเซลล์สืบพันธุ์เพื่อจะตอบว่าปัจจัยภายในมีผลอย่างชัดเจนหรือเปล่าต้องส่องจากโคลนีเดิมซึ่งอยู่ใน quadrat ที่ศึกษาด้วย ซึ่งอาจมีการขยายขนาดของ quadrat ให้ใหญ่ขึ้น ในการศึกษาต่อไป

การศึกษาเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

เซลล์ฟองน้ำในการศึกษาครั้งนี้มีการศึกษาเปรียบเทียบกัน 2 วิธีคือ วิธีการตัด Paraffin section และวิธี Cytospin การศึกษาด้วยวิธีการตัด paraffin section เป็นการศึกษาเซลล์ที่มีการจัดเรียงตัวกันในลักษณะธรรมชาติ ส่วนการศึกษาด้วยวิธี cytopsin เป็นการศึกษาเซลล์ของฟองน้ำที่แยกออกมาในลักษณะเซลล์เดี่ยว (cell dissociation) ผลจากการศึกษาเซลล์ฟองน้ำด้วยวิธีตัด paraffin section สังเกตรูปร่างองค์ประกอบภายในเซลล์และขอบเขตของเซลล์ได้ไม่ชัดเจนเนื่องจากมีเนื้อเยื่อ spongin fiber และ spicule บดบังเซลล์ที่ต้องการศึกษาประกอบกับเซลล์ของฟองน้ำที่ทำการศึกษา มีขนาดเล็กมากและกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์ที่จำกัดทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดของเซลล์ด้วยลักษณะรูปร่างใน section ได้ แต่สามารถจะบอกได้จากตำแหน่งที่เซลล์นั้นอยู่ เช่นกระจายอยู่ในเนื้อเยื่อ (mesohyl) คาดว่าเป็นเซลล์ archaeocyte เซลล์ที่อยู่ผิวมีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ คาดว่าเป็นเซลล์ pinacocyte เซลล์ที่บุอยู่รอบฟองน้ำในเนื้อเยื่อ mesohyl คาดว่าเป็นเซลล์ choanocyte ประกอบกับเอกสารและงานวิจัยที่มีการศึกษามาก่อน ศึกษาเซลล์ของฟองน้ำด้วยกำลังขยายสูงจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ทั้งแบบส่องกราด (SEM) และแบบตัด section (TEM) ทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดของเซลล์จากวิธีการตัด paraffin

section ได้ ส่วนวิธีการศึกษาด้วยวิธี Cytospin สามารถจำแนกเซลล์หลักของฟองน้ำได้ 2 ชนิดคือ archaeocyte และ choanocyte และเซลล์สืบพันธุ์อีก 3 ชนิดคือ สเปิร์ม ไข่และเอ็มบริโอ

Archaeocyte ลักษณะของเซลล์ Archaeocyte จากฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในการศึกษาครั้งนี้มีขนาดของเซลล์ ประมาณ 12 – 20 μm . และมี nucleus ขนาดประมาณ 4 μm ภายในเซลล์ประกอบด้วย food vacuole เนื่องจากฟองน้ำจะมีการกินอาหารแบบ phagocytosis และมีการย่อยอาหารภายในเซลล์ (Bergquist, 1978) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Custodio (2004) ในฟองน้ำ *Hymeniacidon heliophila* มีการศึกษาเซลล์ฟองน้ำด้วยวิธี cell dissociation คล้ายกัน และได้เซลล์ ที่มีลักษณะใกล้เคียงกันคือ มีเซลล์ขนาด 18.2 μm . มีนิวเคลียสขนาด 4.5 μm . ภายในเซลล์ประกอบด้วย vacuole เช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้

Choanocyte ลักษณะของเซลล์ Choanocyte จากฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีขนาดเซลล์ประมาณ 5 μm . มี nucleus ขนาดประมาณ 2 μm . cytoplasm ไส่ จากการศึกษาของ Custodio (2004) ในฟองน้ำ *Hymeniacidon heliophila* พบว่าเซลล์ Choanocyte มีลักษณะคล้ายกับเซลล์ choanocyte จากการศึกษาครั้งนี้ โดยมีขนาดเซลล์ประมาณ 5.2 μm . มี nucleus 2.1 μm . cytoplasm เป็นเนื้อเดียวกัน ขอบเซลล์เรียบ ในการศึกษาของ Bergquist (1978) ด้วยวิธี TEM พบ Choanocyte มีรูปร่างค่อนข้างกลม มี flagellum 1 เส้น และ nucleus มีขนาด 2 - 2.5 μm . และพบ vacuoles ภายในเซลล์ ซึ่งต่างจากการศึกษาในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ครั้งนี้ที่ไม่พบ vacuole ในเซลล์ choanocyte และไม่สามารถเห็น flagellum ได้ อาจเป็นเพราะขนาด flagellum ของ choanocyte มีขนาดเล็ก ขั้นตอนการย้อมสีหรือวิธีการเตรียมตัวอย่างอาจไม่เหมาะสม และเป็นเพราะกำลังขยายของกล้องจำกัด ในการศึกษาใช้กำลังขยายสูงสุดของกล้องจุลทรรศน์ที่ 1000 เท่า ไม่สามารถสังเกตเห็น flagellum ได้

ถุงสเปิร์ม (Spermatid cyst) การศึกษาในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. พบถุงสเปิร์มมีขนาดความกว้างประมาณ 20 – 50 μm . โดยภายในมีสเปิร์มกระจายอยู่ภายในถุง สังเกตเห็นส่วนหัวของสเปิร์มมีขนาดประมาณ 2 μm . ขนาดของถุงสเปิร์มที่มีการศึกษาในฟองน้ำ *Mycale fistulifera* โดย Moroz and Ilan (1995) พบว่าถุงสเปิร์มมีขนาด $86 \pm 14 \mu\text{m}$. และยังแบ่งระยะของถุงสเปิร์มได้เป็น 2 ระยะ ตามระยะของสเปิร์มภายใน คือ primary spermatid และระยะ advance spermatid แบ่งได้โดยอาศัยลักษณะและขนาดของ สเปิร์มภายในถุงสเปิร์ม โดยระยะ primary spermatid สเปิร์มมีขนาดใหญ่คล้ายกับ amoebocyte และระยะ advance spermatid สเปิร์มจะมีขนาดเล็กลง จากการศึกษาไม่สามารถจำแนกระยะของถุงสเปิร์มได้ เนื่องจากไม่เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนในขนาดของสเปิร์มที่พบ จากการศึกษาของ Asa (2000) ในฟองน้ำ

Petrosia sp. ที่บริเวณเกาะสีชัง พบถุงสเปิร์มมีขนาด $14 \pm 3.8 \mu\text{m}$. มีขนาดใกล้เคียงกับการศึกษาในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ครั้งนี้

ไข่ (Oocyte) ลักษณะของไข่ในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีขนาดประมาณ $8 - 20 \mu\text{m}$. แบ่งได้เป็น 3 ระยะคือ early developed oocyte, more developed oocyte และ fully developed oocyte โดยใช้ลักษณะของนิวเคลียส ลักษณะของไข่แดงและการติดสีในการจำแนกจากการศึกษาของ Asa (2000) ในฟองน้ำ *Petrosia* sp. ที่บริเวณเกาะสีชัง พบไข่มีขนาด $18 \pm 7.6 \mu\text{m}$. มีขนาดใกล้เคียงกับการศึกษาครั้งนี้ จากการศึกษานี้ จากการศึกษาของ Moroz and Ilan (1995) ในฟองน้ำ *Mycale fistulifera* พบว่าไข่ของฟองน้ำมีขนาดใหญ่สุด $376 \pm 41 \mu\text{m}$. ซึ่งต่างจากการศึกษาครั้งนี้มากเนื่องจากความแตกต่างในลำดับของสายวิวัฒนาการ ในฟองน้ำ *Polymastia granulosa* (Hadromerida) จากการศึกษาของ Fell ในปี ค.ศ. 1969 (อ้างตาม Bergquist, 1978) ไข่ในระยะ early developed มีลักษณะคล้ายกับในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ที่ศึกษาครั้งนี้มาก

เอ็มบริโอ (Embryo) ลักษณะของเอ็มบริโอของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีขนาด $15 - 20 \mu\text{m}$. แบ่งได้เป็น 3 ระยะโดยใช้ลักษณะขององค์ประกอบของเซลล์และการติดสีแบ่งได้เป็น early developed embryo, more developed embryo และ fully developed embryo จากการศึกษานี้ จากการศึกษาของ Asa (2000) ในฟองน้ำ *Petrosia* sp. ที่บริเวณเกาะสีชัง พบเอ็มบริโอมีขนาด $173 \pm 9.4 \mu\text{m}$. สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าไข่ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในการศึกษาครั้งนี้มาก โดยเมื่อเทียบลำดับทางสายวิวัฒนาการแล้วพบว่ามีความแตกต่างกันคืออยู่ต่าง Subclass กัน จากการศึกษาของ Fell ในปี ค.ศ. 1983 ในฟองน้ำ Subclass Tetracinomorpha พบว่ามีไข่และเอ็มบริโอขนาดไม่เกิน $55 \mu\text{m}$ ซึ่งฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ก็เป็นฟองน้ำชนิดหนึ่งที่อยู่ใน Subclass Tetracinomorpha ซึ่งก็มีความสอดคล้องกัน

การเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

จากการศึกษาในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. พบว่าฟองน้ำมีช่วงการสืบพันธุ์ 1 ครั้งในรอบปี ซึ่งฟองน้ำโดยทั่วไปมีช่วงการสืบพันธุ์ (Reproductive cycle) ปีละครั้งเช่นเดียวกัน ซึ่งจะมีช่วงการสืบพันธุ์ว่างหรือแคบแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของฟองน้ำ จากการศึกษาของ Fell ในปี ค.ศ. 1970 (อ้างตาม Fell, 1983) ฟองน้ำ *Haliclona ecbasis* มีช่วงการสืบพันธุ์ ตั้งแต่เดือนมิถุนายน ถึงเดือนพฤศจิกายน ในฟองน้ำ *Pellina semitubulosa* ก็มีช่วงการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ปีละครั้งและมีช่วงสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมิถุนายน (Mercurio และ Corriero, 2000) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. คือมีช่วงการสืบพันธุ์หลายเดือนเช่นกัน ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนกรกฎาคม แต่ก็มีฟองน้ำบางชนิดที่มีช่วงของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์สั้นเช่น ในฟองน้ำ *Axinella damicornis* ศึกษาโดย Siribelli ในปี ค.ศ. 1962 (อ้าง

ตาม Fell, 1993) มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เฉพาะเดือนพฤษภาคม ในกลุ่มฟองน้ำที่มีช่วงวงจรการสืบพันธุ์ (reproductive cycle) นานมักจะออกลูกเป็นตัว (viviparous) และมีการดูแลตัวอ่อนก่อนออกจากตัวแม่ (brood) ส่วนกลุ่มของฟองน้ำที่ออกลูกเป็นไข่ (oviparous) จะมีวงจรการสืบพันธุ์สั้น จากการศึกษาในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในครั้งนี้ มีวงจรการสืบพันธุ์กว้างและพบเอ็มบริโอภายในเนื้อเยื่อหลายเดือนแสดงว่าฟองน้ำชนิดนี้มีการดูแลเอ็มบริโอและออกลูกเป็นตัว

- ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

ในการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมบริเวณกองหินส้มบันย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี และนำมาหาค่าความสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์สืบพันธุ์พบว่ามีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและความเค็มสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Fell (1974) พบว่าการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ในสัตว์ทะเลส่วนมากจะมีความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมซึ่งได้แก่อุณหภูมิ ความเค็ม และปริมาณอาหารที่เหมาะสม และเพื่อความอยู่รอดของตัวอ่อน (larva) ตัวแม่ต้องแน่ใจว่าการปล่อยตัวอ่อน (larva) ออกไปในมวลน้ำแล้วตัวอ่อนจะสามารถอยู่รอด ซึ่งต้องเป็นช่วงที่ไม่มี การเปลี่ยนแปลงรุนแรงทั้งอุณหภูมิและความเค็มรวมทั้งต้องมีปริมาณอาหารเหมาะสม โดยปกติจะเป็นช่วงเปลี่ยนฤดูจากฤดูหนาวเข้าสู่ฤดูร้อน ซึ่งช่วงนี้จะเป็นช่วงที่เหมาะสมที่สุดทั้งความเค็มที่เพิ่มสูงขึ้นและไม่มีการเปลี่ยนแปลงมาก รวมทั้งปริมาณแพลงก์ตอนก็มีมากเนื่องจากได้สารอาหารเพิ่มจากการ upwelling การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. พบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นต่อเนื่องตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2547 สัมพันธ์กับปริมาณไข่ (oocyte) ที่มีเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Harrison (1991) พบว่า ช่วง เปลี่ยนฤดูจากฤดูหนาวเป็นฤดูร้อน (overwintering) มีความสัมพันธ์กับการเหนี่ยวนำให้ฟองน้ำ *Ephydatia fluviatilis* มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และจากการศึกษาของ Ereskovsky ในปี ค.ศ. 2000 พบว่าฟองน้ำมีการสร้างไข่ตลอดช่วงฤดูหนาวและจะมีการเจริญสมบูรณ์เมื่อเข้าสู่ฤดูร้อนและจะปล่อยตัวอ่อน (larva) ภายในสองอาทิตย์ หลังจากมีการปฏิสนธิกับสเปิร์ม และพบว่าความเค็มที่เพิ่มขึ้นและค่อนข้างคงที่ประมาณ 32 psu มีแนวโน้มสร้างไข่เพิ่มขึ้น

ผลจากการสุ่มนับเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. จากแต่ละส่วนของเนื้อเยื่อพบว่าเนื้อเยื่อแต่ละส่วนของฟองน้ำมีชนิดและจำนวนเซลล์สืบพันธุ์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ การสุ่มตัวอย่างฟองน้ำมาศึกษาจึงสามารถสุ่มเนื้อเยื่อส่วนไหนก็ได้มาศึกษา ในส่วนของเซลล์สืบพันธุ์ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ที่พบเซลล์สืบพันธุ์ต่างจากในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547 นั้นคาดว่าเกิดจากช่วงแรกที่ศึกษาการปรับเทคนิคในการศึกษาเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำยังไม่เหมาะสม และในการสุ่มตัวอย่างเป็นการสุ่มแบบ random ไม่ได้เก็บโคโลนีเดิมจากสาเหตุที่ว่าโคโลนีฟองน้ำมีขนาดเล็กไม่สามารถที่จะเก็บจากโคโลนีเดิมได้ตลอด ซึ่งอาจให้ผลไม่แม่นยำ และในการศึกษาวงจรชีวิตของฟองน้ำควรจะศึกษาอย่างน้อย 2 ปี เพื่อเปรียบเทียบรูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

ของฟองน้ำในรอบปี ซึ่งถ้าฟองน้ำมีวงจรการสืบพันธุ์ 1 ปี รูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ก็จะคล้ายกันทั้ง 2 ปี ในส่วนของการศึกษาช่วงอายุของฟองน้ำ (life span) ของฟองน้ำต้องมีการติดตามอย่างน้อยเป็น 10 ปี จากการตรวจวัดอายุของฟองน้ำโดยการวัดอัตราการเติบโตต่อปีแล้วเทียบกับขนาดของ โคลินี่ ก็พบว่าฟองน้ำ *Rhabdocalyptus sawsoni* มีอายุถึง 220 ปี (Leys and Lauzon, 1998)

การศึกษาการเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในห้องปฏิบัติการ

ฟองน้ำในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง บ่อในระบบเลี้ยง และบ่อน้ำดิบ มีอัตราการเติบโตสุทธิแตกต่างกันในช่วงเดือนที่ 2 และ 3 ของการเลี้ยง คือ ในเดือนที่ 2 ฟองน้ำในบ่อในระบบเลี้ยง มีอัตราการเติบโตสุทธิดีกว่าฟองน้ำในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง ส่วนฟองน้ำในบ่อน้ำดิบ มีอัตราการเติบโตสุทธิดีกว่าฟองน้ำในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง และฟองน้ำในบ่อในระบบเลี้ยง กับฟองน้ำในบ่อน้ำดิบ มีอัตราการเติบโตสุทธิไม่ต่างกันทางสถิติ ในเดือนที่ 3 ฟองน้ำในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง มีอัตราการเติบโตสุทธิดีกว่าฟองน้ำในบ่อน้ำดิบ ส่วนฟองน้ำในบ่อในระบบเลี้ยง มีอัตราการเติบโตสุทธิฟองน้ำในบ่อน้ำดิบ และฟองน้ำในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง กับฟองน้ำในบ่อในระบบเลี้ยง มีอัตราการเติบโตสุทธิไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อตรวจสอบปัจจัยกายภาพในบ่อเลี้ยง ทั้ง 3 บ่อ ซึ่งมี อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจน แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรท์และฟอสเฟต พบว่ามีปัจจัยกายภาพที่แตกต่างกัน คือ ปริมาณแอมโมเนียมีความสัมพันธ์กับอัตราการเติบโตสุทธิพบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้ามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งตรงกับการศึกษา Colt and Armstrong ในปี ค.ศ. 1981 (อ้างตาม Osinga, 1999) พบว่าปริมาณแอมโมเนียมีความเป็นพิษกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในบ่อเลี้ยง โดยแอมโมเนียจะมีผลต่อระบบหายใจและระบบเลือดของสัตว์ทดลอง

สภาพการเลี้ยงในรูปแบบทดลองในครั้งนี้ไม่เหมาะสมกับการเลี้ยงเนื่องจากฟองน้ำไม่มีการเติบโตเพิ่มขนาด และยังมีการลดขนาดลงเรื่อย ๆ เป็นเพราะปัจจัยสิ่งแวดล้อมหลายอย่างไม่เหมาะสม ได้แก่

-ระบบการหมุนเวียนน้ำ มีการหมุนเวียนน้อยเกินไปมีการสะสมของแอมโมเนียเกิดจากระบบน้ำในบ่อเลี้ยงที่มีการไหลเวียนไม่เพียงพอซึ่งเมื่อเทียบกับปริมาตรของบ่อกับอัตราการไหลของน้ำในบ่อแตกต่างกันคือ บ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยงมีปริมาตรประมาณ 20 ตัน มีอัตราการไหลของน้ำเข้า – ออก จากบ่อเท่ากับ 720 ลิตรต่อชั่วโมง น้ำในบ่อมีการสะสมของเสียจนถึง 27 ชั่วโมง บ่อในระบบเลี้ยงมีปริมาตร 1 ตัน มีอัตราการไหลของน้ำเข้า – ออกจากบ่อมีค่าเท่ากับ 120 ลิตรต่อชั่วโมง น้ำมีการสะสมของเสียประมาณ 8 ชั่วโมง และบ่อน้ำดิบมีปริมาตร 400 ตัน มีการสูบน้ำเข้ามาเก็บไว้ช่วงน้ำขึ้นของทุกวันและปล่อยออกประมาณ 10 ตันต่อชั่วโมง น้ำมีการ

สะสมของเสียประมาณ 24 ชั่วโมงตลอดทั้งวัน ในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง มีปริมาณแอมโมเนียเฉลี่ย 0.072 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าบ่อในระบบเลี้ยง และ บ่อน้ำดิบ ที่มีค่าเฉลี่ย 0.036 และ 0.035 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ประมาณ 2 เท่า ซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการเติบโตสุทธิในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยงที่มีอัตราการเติบโตสุทธิน้อยสุด

-ปริมาณอาหาร ในชุดการทดลองที่ 2 มีการให้อาหารในบ่อเพียงบ่อเดียวคือ บ่อในระบบเลี้ยง มีการให้อาหารพองน้ำเป็นสาหร่าย *Tetraselmis* sp. (ขนาดเซลล์ 8 – 12 μ m) วันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 20 ลิตร เช้า – เย็น ความหนาแน่นเซลล์ (500,000 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร) ซึ่งอาจจะไม่เพียงพอต่อความต้องการหรือไม่ให้อาหารที่พองน้ำสามารถจะย่อยได้แต่สาเหตุที่เลือกสาหร่ายชนิดนี้เป็นอาหารให้พองน้ำเนื่องจากดูจากขนาดเซลล์เล็กกว่า ostium ของพองน้ำ ซึ่งจริง ๆ แล้วในธรรมชาติพองน้ำมีการกินอาหารแบบ filter feeding คือกรองกินจากมวลน้ำแบบไม่เลือกชนิดอาหารจำกัดแต่ขนาดคือต้องเล็กกว่าขนาดของ ostium ซึ่งไม่สามารถที่จะเลียนแบบอาหารที่พองน้ำได้รับในธรรมชาติได้เนื่องจากไม่รู้องค์ประกอบและสัดส่วนที่แน่ชัดในธรรมชาติ โดยปริมาณคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายแค่ชนิดเดียวที่เราให้อาจไม่เพียงพอต่อความต้องการ จากการศึกษาของ Fry ในปี ค.ศ. 1971 (อ้างตาม Osinga, 1998) ได้ทดลองเลี้ยงพองน้ำ *Ophitasporgia scleriata* ในระบบปิดได้ในระยะยาวโดยการผสมสาหร่าย 4 ชนิดที่มีขนาดแตกต่างกันรวมทั้งแบคทีเรียที่ตายแล้วทั้งที่ยังคงรูปเซลล์และเซลล์ที่สูญเสียรูปจากการแตกหัก และจากการศึกษาของ Osinga (1998) สามารถเลี้ยงพองน้ำในหลอดทดลองได้นานกว่า 1 ปี โดยผสมสาหร่าย 2 ชนิดให้พองน้ำกิน Osinga (1999) ได้ศึกษาการเลี้ยงพองน้ำ *Pseudosuberites* (aff.) *andrewsi* ในระบบปิดโดยบ่อมีขนาด 200 ลิตร มีการให้อากาศ ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่อยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส และความเค็มอยู่ที่ 34 psu มีการเติม Silica ในรูป $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Si} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 0.25 มิลลิโมลต่อลิตร มีการให้สาหร่าย *Chorella Sorokiniana* (ขนาดเซลล์ประมาณ 3 μ m) สัปดาห์ละ 2 ครั้ง ครั้งละ 50 มิลลิลิตร (ความหนาแน่น 10 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร) และให้สาหร่าย *Rhodimonas* sp. (ขนาดเซลล์ประมาณ 6 μ m) สัปดาห์ละครั้ง ครั้งละ 50 มิลลิลิตร (ความหนาแน่น 1 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร) เป็นอาหาร จากศึกษาเพาะเลี้ยงเซลล์พองน้ำพบว่าเซลล์พองน้ำสามารถย่อยสาหร่าย 2 ชนิดนี้ได้จึงเลือกสาหร่าย 2 ชนิดนี้ให้เป็นอาหารพองน้ำ

-อุณหภูมิ ในบ่อเลี้ยงมีปริมาตรน้ำน้อย ทำให้การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงวันมีค่อนข้างสูงประมาณ 3 – 4 องศาเซลเซียส โดยปกติในน้ำทะเลจะมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในรอบวันไม่เกิน 2 องศาเซลเซียส ในภาวะปกติในธรรมชาติพองน้ำส่วนใหญ่จะไม่ประสบปัญหาอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรงจนทำให้พองน้ำไม่สามารถปรับตัวได้ Arndt ในปี ค.ศ. 1933 (อ้างตาม Osinga, 1999) พบว่าพองน้ำสามารถทนน้ำที่เย็นลงได้มากกว่าน้ำที่อุ่นขึ้นจากการศึกษาของ Storr ในปี ค.ศ. 1964 (อ้างตาม Osinga, 1999) พบว่าพองน้ำจะมีการลด

ขนาดตัวเองลงในช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำและสามารถเพิ่มขนาดกลับขึ้นมาได้เมื่ออุณหภูมิกลับมาเหมือนเดิม ส่วนในกรณีที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้พองน้ำนั้นตายและไม่สามารถกลับมากินได้อีก

-การแก่งแย่งพื้นที่กัน (Competition) จากการทดลองเลี้ยงเบื่องต้น ที่เลี้ยงในปอรับน้ำจากระบบเลี้ยง มีปัญหาเกิดขึ้นกับ colony พองน้ำคือมีสาหร่ายรวมทั้งพองน้ำชนิดอื่นมาเกาะบน colony และพองน้ำตัวอื่นที่มากลุมโตเร็วกว่าทำให้พองน้ำที่เราศึกษาโตน้อยกว่าที่ควรจะเป็น ปกติในธรรมชาติก็มีการ competition ระหว่างพองน้ำด้วยกันได้เช่นกัน จากการศึกษาของ Bell และ Barnes ในปี ค.ศ.2003 พบว่าพองน้ำที่ปกติอาศัยเกาะเคลือบอยู่บนก้อนหินจะมีอัตราการเติบโตมากกว่าและสามารถโตเคลือบทับพองน้ำชนิดอื่นที่เพิ่งลงเกาะหรือพองน้ำมีความสามารถในการยึดเกาะกับพื้นหินน้อยกว่า

ปัจจัยที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงพองน้ำ

-ความเค็ม จากการศึกษาของ Macmillan ในปี ค.ศ. 1996 (อ้างตาม Osinga, 1999) พบว่าความเค็มลดต่ำมีผลต่อการเลี้ยงพองน้ำและแนะนำว่าไม่ควรเลี้ยงพองน้ำในเขตปากแม่น้ำ และจากการศึกษาของ Storr ในปี ค.ศ. 1964 (อ้างตาม Osinga, 1999) ในพองน้ำ *Hippospongia Lachne* พบว่าสามารถทนความเค็มได้สูงถึง 46 psu แต่เมื่อความเค็มต่ำกว่า 26 psu พองน้ำจะตาย

-อาหาร จากการศึกษาของ Reiswig ในปี ค.ศ. 1971; Pile ในปี ค.ศ.1996 และ Pile ในปี ค.ศ. 1997 (อ้างตาม Osinga, 1999) ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมกับพองน้ำพบว่าสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กกว่า 2 μm ซึ่งได้แก่ กลุ่ม Heterotrophic bacteria (*Synechococcus* sp.) และ Cyanobacteria (Prochlorophytes) มีอิทธิพลต่อการเติบโตของพองน้ำมากกว่าแพลงก์ตอนที่มีขนาดใหญ่ จากการศึกษาเซลล์ Archaeocyte ในพองน้ำโดยทั่วไปขนาดเซลล์ของพองน้ำมีขนาดเล็กไม่เกิน 20 μm และพองน้ำมีการย่อยอาหารภายในเซลล์ คือมีการกินอาหารแบบ Phagocytosis โดยการโอบอาหารแล้วมีการย่อยภายในเซลล์ Archaeocyte และ Choanocyte ซึ่งอาหารที่มีขนาดเล็กสามารถย่อยได้ง่ายกว่าอาหารที่มีขนาดใหญ่

-ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ จากการศึกษาของ Duckworth (2003) ทำการเลี้ยงพองน้ำชนิด *Luthunculia wellingtonensis* และชนิด *Polymastia croceus* เป็นระยะเวลา 9 เดือน ในสถานีที่อยู่ด้านรับลมและอยู่ด้านอับลม พบว่าพองน้ำที่เลี้ยงในด้านรับลมมีอัตราการเติบโตดีกว่า เนื่องจากกระแสน้ำแรงทำให้มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำมากกว่าด้านอับลม

จากการศึกษาของ Fronzato, R. ในปี ค.ศ.1999 ศึกษาอัตราการรอดของพองน้ำบางชนิด ในทะเลเมดิเตอร์เรเนียน โดยการตัดเนื้อเยื่อบางส่วนของโคโลนีของพองน้ำมาเลี้ยงใน

ฟาร์มทะเล (ตารางที่ 11) พบว่าจัดฟองน้ำออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ไม่สามารถเลี้ยงได้ เช่น ฟองน้ำ *Axinella damicornis* และฟองน้ำ *Ircinia varaiabilis* ที่มีอัตราการรอดหลังการเลี้ยง 2 เดือน 0 และ 1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและ กลุ่มที่สามารถเลี้ยงได้ เช่น ฟองน้ำ *Hippospongia communis* และฟองน้ำ *Petrosia ficiformis* ที่มีอัตราการรอด 100 % หลังการเลี้ยง 2 เดือน จากการทดลองเลี้ยงฟองน้ำเบื้องต้นครั้งนี้พบว่าฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีอัตราการรอด 100 % ใน 2 เดือนเช่นกัน สามารถสรุปได้ว่าฟองน้ำชนิดนี้สามารถเลี้ยงในระบบเลี้ยงที่มีระบบน้ำไหลผ่านตลอดได้ แต่ต้องปรับสภาพปัจจัยสิ่งแวดล้อมให้เหมาะสมทั้งคุณภาพน้ำและและชนิดของอาหาร จากการทดลองเลี้ยงฟองน้ำในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกันสามารถ ออกแบบบ่อเลี้ยงฟองน้ำเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการเลี้ยงมากขึ้นได้ โดยเลี้ยงในระบบที่มีน้ำไหลผ่านตลอด คือเลี้ยงในบ่อในระบบเลี้ยง ปริมาณน้ำประมาณ 2 ตัน เพิ่มอัตราการไหลของน้ำเป็น 1 ตันต่อชั่วโมง มีการให้อาหารเป็นอาหารผสมจากสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิด รวมทั้งแบคทีเรียที่ตายแล้ว โดยเพิ่มปริมาณการให้มากขึ้น

ตารางที่ 11 อัตราการรอดของฟองน้ำบางชนิด

| ชนิด | จำนวน colony | อัตราการรอดหลัง 48 ชั่วโมง (%) | อัตราการรอดหลัง 2 เดือน (%) | อ้างอิง |
|---------------------------------|--------------|--------------------------------|-----------------------------|---|
| 1. <i>Spongia officinalis</i> | 75 | 69.4 | 69.4 | (Fronzato, P. et al.,1999) ตั้งแต่หมายเลข 1 - 7 |
| 2. <i>Hippospongia communis</i> | 252 | 100 | 100 | |
| 3. <i>Agelas oroides</i> | 46 | 45.8 | 44 | |
| 4. <i>Axinella damicornis</i> | 50 | 0 | 0 | |
| 5. <i>Cacospongia molior</i> | 60 | 83.3 | 83.3 | |
| 6. <i>Ircinia varaiabilis</i> | 50 | 2 | 1 | |
| 7. <i>Petrosia ficiformis</i> | 40 | 100 | 100 | |
| 8. <i>Pachastrissa</i> sp. | 32 | 100 | 100 | |

ในส่วนของการนำฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ไปใช้ประโยชน์เพื่อการสกัดสารเคมีนั้น คิดว่ายังไม่เหมาะสมเนื่องจากอัตราการเติบโตในธรรมชาติของฟองน้ำชนิดนี้น้อยมากจากการศึกษาครั้งนี้แทบไม่มีการเติบโตเลยในรอบปี ตั้งแต่เดือน มิถุนายน พ.ศ.2546 มีพื้นที่ปกคลุม 12.34 ± 2.37 เปอร์เซ็นต์ ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 มีพื้นที่ปกคลุม 12.40 ± 2.59 เปอร์เซ็นต์ ถ้าต้องการนำสารเคมีในฟองน้ำชนิดนี้ไปใช้ในทางอุตสาหกรรมควรทำการสังเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารเคมีขึ้นมาแทนที่จะเก็บจากธรรมชาติ

ส่วนในด้านการศึกษาวិธีการเพาะเลี้ยงฟองน้ำนั้นต้องทำต่อไปอาจจะปรับวิธีก็คือต้องมี การปรับการเลี้ยงฟองน้ำโดยแยกเซลล์ฟองน้ำออกมาเป็นชนิดต่าง ๆ แล้วนำไปสกัดสารดูว่าเซลล์ อะไรหรือเนื้อเยื่อส่วนไหนที่มีการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แล้วก็เพาะเลี้ยงเฉพาะเซลล์นั้นใน ห้องทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือถ้าจะเลี้ยงฟองน้ำในโรงเพาะเลี้ยง ต้องมีการทดลองปรับสภาวะ ที่เหมาะสมกับการเลี้ยงและการเลี้ยงแบบอาหารที่ฟองน้ำได้ธรรมชาติ ในส่วนของการพัฒนาการ เลี้ยงเพื่ออุตสาหกรรมนั้นต้องใช้เวลาศึกษาอย่างน้อยเป็น 10 ปี

เทคนิคในการศึกษาเซลล์ฟองน้ำ

จากการรวบรวมเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาชนิดของเซลล์ในฟองน้ำ พบว่า การศึกษาส่วนใหญ่นอกจากจะใช้การตัด paraffin section และย้อมด้วยสี Hematoxylin และ Eosin ซึ่งเป็นวิธีการพื้นฐานแล้ว ในรายงานส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอน ซึ่งพบว่ามีการใช้ทั้งเทคนิคแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy) และ เทคนิคที่ต้องตัดเป็น section บาง (Transmission electron microscopy) การศึกษาชนิดของ เซลล์ในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในเบื้องต้นวางแผนว่าจะทำการศึกษาโดยการตัด paraffin section และย้อมด้วยสี Hematoxylin และ Eosin ดังเช่นการศึกษาของ Asa (2000) ที่ศึกษาใน ฟองน้ำ *Petrosia* sp. จากบริเวณเกาะสีชังเช่นกัน แต่เมื่อทำการตัด section และย้อมสีฟองน้ำ *Pachastrissa* sp แล้วพบว่าเซลล์ของฟองน้ำชนิดนี้มีขนาดเล็กมาก และถูกบดบังด้วย spongin fiber และ spicules จึงต้องหาเทคนิคที่ช่วยให้สามารถศึกษาชนิดของเซลล์ของฟองน้ำชนิดนี้ได้ โดยการย้อมเซลล์ฟองน้ำผ่านตาข่ายไนลอน (nylon mesh) จากนั้นนำ cell suspension ที่ได้ ไปทำ ให้เซลล์ติดบนสไลด์โดยใช้เทคนิค cytopspin ช่วยให้ผู้สามารถย้อมสีเซลล์ฟองน้ำเพื่อศึกษาลักษณะ ของเซลล์เมื่ออยู่ในสภาพเป็นเซลล์เดี่ยวได้ชัดเจน อย่างไรก็ตามก็ยังมีปัญหาในการศึกษา คือ เม็ดสี (pigment) ของฟองน้ำที่ติดมาในสไลด์แล้วก็ยังเป็นปัญหาค้างการศึกษาดูเซลล์ของฟองน้ำ จึง ต้องมีการปรับเทคนิคในขั้นตอนต่าง ๆ ของการศึกษา ได้แก่ การปรับความเข้มข้นของเซลล์ทำให้ cytopspin เหมาะสม เพื่อให้เซลล์มีการกระจายเพื่อช่วยให้การศึกษาลักษณะและนับจำนวน เซลล์ชนิดต่าง ๆ ต่อปริมาตรทำได้สะดวกขึ้น และการปรับเทคนิคและขั้นตอนในการ fix การย้อม สี อย่างไรก็ตามก็การศึกษาชนิดของเซลล์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp การจัดเรียงตัวของเซลล์และ ตำแหน่งที่พบเซลล์ของฟองน้ำในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ให้ได้รายละเอียดที่ชัดเจนคงจะต้องใช้หลาย เทคนิคร่วมกัน

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

ลักษณะของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เป็นฟองน้ำใน Class Demospongiae Order Astrophorida Family Calthropellidae การกระจายของฟองน้ำบริเวณกองหินส้มป็นย้อย เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี เป็นแบบกลุ่ม (Clump) ในประชาคมปะการัง (coral community) ที่มีความหลากหลายน้อยและส่วนใหญ่เป็นปะการังที่เพิงลงเกาะบนพื้นหิน โดยความหนาแน่นของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. เฉลี่ยอยู่ที่ 1.2 ตารางเซนติเมตรต่อตารางเมตร ที่ระดับความลึก 6 – 7 เมตร

การเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ.2547

ฟองน้ำมีการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมในแต่ละเดือนขึ้นกับหลายปัจจัยร่วมกันทั้งปัจจัยสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิและความเค็ม เมื่ออุณหภูมิหรือความเค็มมีการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันฟองน้ำจะมีการลดพื้นที่ปกคลุมและขนาดของโคโลนีจะเล็กลง และปัจจัยทางชีวภาพที่มีผลต่อพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำได้แก่ ปริมาณแพลงก์ตอนพืช โดยการเติบโตของฟองน้ำที่ศึกษา มีความสัมพันธ์กับแพลงก์ตอนกลุ่มไดอะตอม และ กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ไปในทิศทางเดียวกัน และยังขึ้นกับปัจจัยภายในตัวของฟองน้ำเองคือ ช่วงที่ฟองน้ำมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ฟองน้ำจะไม่มีพลังงานเหลือไปเจริญเติบโตจึงทำให้ขนาดของพื้นที่ปกคลุมลดลง ในการสรุปว่า ปัจจัยสิ่งแวดล้อมหรือปัจจัยชีวภาพใดมีผลกับการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำนั้นไม่สามารถระบุได้ว่าเกิดจากปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งเพราะว่าการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำเกิดจากหลายปัจจัยกระทำร่วมกัน ขึ้นกับว่าช่วงไหนปัจจัยใดมีการเปลี่ยนแปลงฉับพลันปัจจัยนั้นก็จะเป็นปัจจัยหลักต่อการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำส่วนปัจจัยอื่น ๆ เป็นปัจจัยเสริม

การศึกษาพื้นที่ปกคลุมของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ครั้งนี้ ศึกษาเฉพาะที่พื้นที่ผิวด้านนอก จากการสังเกตพื้นผิวที่มีสีดำ ไม่ได้สังเกตในส่วนลึกลงไปใต้น้ำ

เซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. และการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ของฟองน้ำในรอบปี

จากการศึกษาเซลล์ฟองน้ำด้วยวิธีตัด Paraffin section จัดแบ่งชั้นของเนื้อเยื่อฟองน้ำได้เป็นสองชั้นคือเนื้อเยื่อชั้นนอก (ectosomal skeleton) ชั้นนี้หนาประมาณ 100 μ m. ประกอบด้วยเส้นใย spongin และ spicule จัดเรียงตัวกันอย่างมีระเบียบ มี pigment cell สีดำถึงน้ำตาลกระจายอยู่ทั่วไป ในชั้นนี้ไม่มีระบบท่อน้ำ เนื้อเยื่อชั้นใน (endosomal skeketon) เป็นชั้นที่ถัดมาจากเนื้อเยื่อชั้นนอก ความหนาของชั้นนี้ขึ้นกับขนาดของโคโลนี ในชั้น endosomal skeketon ประกอบด้วย ระบบท่อน้ำ (oscles, choanocyte chamber) ในเนื้อเยื่อชั้นนี้จะพบเซลล์ archaeocyte choanocyte ไข่ สเปิร์มและเอ็มบริโอ

ฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. มีวงจรการสืบพันธุ์ 1 ครั้งในรอบปี มีรูปแบบการสืบพันธุ์เป็นแบบ Successive Hermaphroditism และออกลูกเป็นตัว (Viviparous) คือมี สองเพศในโคโลนีเดียวกันและมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียไม่พร้อมกันโดยการสร้างไข่เกิดก่อนและหลังจากสร้างไข่ได้ 3 เดือนพบมีการสร้างสเปิร์ม พบไข่ได้ในเดือนมกราคม ถึงเดือนสิงหาคม พบสเปิร์มได้ในเดือนเมษายน ถึงเดือนกรกฎาคม และเริ่มพบเอ็มบริโอในเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน และการกระจายของเซลล์สืบพันธุ์มีการกระจายเฉลี่ยใกล้เคียงกันทั่วทั้งโคโลนี

การเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในห้องปฏิบัติการ

ในการทดลองเลี้ยงฟองน้ำเบื้องต้น เลี้ยงในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยงและบ่อในระบบเลี้ยงพบว่าฟองน้ำกลุ่มที่น้ำหนักมากกว่า 80 กรัมมีอัตราการเติบโตสุทธิดีกว่ากลุ่มที่น้ำหนักน้อยกว่า 80 กรัมเพราะฟองน้ำที่มีน้ำหนักน้อยกว่า 80 กรัมต้องใช้พลังงานในการซ่อมแซมและสร้างเนื้อเยื่อส่วน ectosomal skeleton และเป็นน้ำหนักที่น้อยเกินไปสำหรับการนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ในการทดลองในบ่อเลี้ยงที่มีสภาพต่างกัน คือบ่อรวมน้ำจากระบบเลี้ยง บ่อในระบบเลี้ยง และบ่อเก็บน้ำดิบ ทุกบ่อมีระบบน้ำแบบไหลผ่านตลอดพบว่าอัตราการเติบโตสุทธิของฟองน้ำขึ้นกับปริมาณแอมโมเนีย คือเมื่อปริมาณแอมโมเนียสูงจะส่งผลให้อัตราการเติบโตสุทธิลดลง บ่อในระบบเลี้ยง ที่มีการให้อาหารเป็นสาหร่าย *Tetracelmis* sp. วันละ 20 ลิตร เข้า - เย็น มีอัตราการเติบโตสุทธิที่สุด

ข้อเสนอแนะ

1. ด้านนิเวศวิทยา

- ควรศึกษาการกระจายและความหนาแน่นของฟองน้ำชนิดนี้ รวมทั้งฟองน้ำกลุ่มอื่นในประเทศไทย ซึ่งจะเป็นพื้นฐานในงานด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ ด้านนิเวศวิทยา และการนำฟองน้ำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

- ควรศึกษาเพิ่มเติม ในเรื่องการลงเกาะ การ Metamorphosis และการทดแทนประชากรของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในธรรมชาติ รวมทั้ง substrate ที่เหมาะสมกับการลงเกาะของฟองน้ำเนื่องจากพื้นที่ว่างในบริเวณที่ศึกษามีน้อยมาก ในการศึกษาเรื่องนี้ทำได้โดยเก็บตัวอย่างฟองน้ำในธรรมชาติช่วงเดือน พฤษภาคม ถึงเดือนกรกฎาคม ซึ่งจากผลการศึกษาคาดว่า จะมีการปล่อยตัวอ่อนในมวลน้ำและนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการปรับสภาพอุณหภูมิและความเค็มรวมทั้งปริมาณอาหารให้เหมาะสม ทดลองการลงเกาะลงบนวัสดุที่แตกต่างกัน ศึกษาการ Metamorphosis ภายใต้อุณหภูมิที่ต่างกัน และวัดอัตราการรอดเป็นรายชั่วโมงและรายวันเพื่อดูความสามารถในการทดแทนประชากรของฟองน้ำชนิดนี้

- ควรศึกษาในเรื่อง Competition และ Predation ในฟองน้ำ จากการสังเกตทั้งในธรรมชาติและในห้องปฏิบัติการพบว่าฟองน้ำชนิดอื่น และปะการังอ่อน มีการอาศัยอยู่ร่วมกันกับฟองน้ำชนิดที่ศึกษาครั้งนี้ ควรศึกษาในเรื่อง competition ระหว่างฟองน้ำกับสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยอยู่ร่วมกัน และในส่วนของ predation ควรมีการศึกษาเนื่องจากในฟองน้ำชนิดอื่นมีรายงานว่า มีสัตว์บางชนิดสามารถกินฟองน้ำได้ เช่น ทากเปลือย และดาวทะเลบางชนิด เป็นต้น

2. ด้านการศึกษาเซลล์สืบพันธุ์

- วิธีการศึกษาและติดตามเซลล์สืบพันธุ์ จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ไม่พบตัวอ่อน (larvae) ในธรรมชาติ ต้องมีวิธีการในการดักจับตัวอ่อน (larvae) ในธรรมชาติจากที่ทราบแล้วว่า ตัวอ่อนของฟองน้ำชนิดนี้ถูกปล่อยออกจากตัวแม่ในเดือนเมษายน ถึงเดือนมิถุนายน ก็ให้เก็บตัวอย่างที่ขึ้นในช่วงนี้

- การเก็บตัวอย่าง จากการศึกษาเนื้อเยื่อแต่ละส่วนของฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. พบว่าแต่ละส่วนของเนื้อเยื่อมีเซลล์สืบพันธุ์แต่ละชนิดกระจายอยู่ใกล้เคียงกัน การสุ่มเก็บเนื้อเยื่อมาเพื่อศึกษาในครั้งถัดไปไม่ต้องเก็บตัวอย่างมาครั้งละมาก ๆ สามารถเก็บเนื้อเยื่อฟองน้ำส่วนไหนก็ได้มาศึกษา

- การดู function หน้าที่ของเซลล์ ควรศึกษาโดยใช้วิธีตรวจสอบ enzyme activity ในการศึกษาเซลล์แต่ละชนิดเนื่องจากในเซลล์แต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบภายในเซลล์แตกต่างกัน เช่น ใน เซลล์ Pinacocyte มี vacuoles เป็น phagosomes สามารถใช้ enzyme Acid phosphates ในการตรวจสอบ และในเซลล์ Choanocyte มี vacuole เป็น phagosomes pinocytotic vesicles และ paracrystalline เป็นองค์ประกอบ สามารถใช้ enzyme Proteolytic lipolytic และ amylitic ตรวจสอบได้

- การศึกษาเซลล์สีบัพันธ์ ควรจะเพิ่มการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และ/หรือเทคนิคของกล้องจุลทรรศน์แบบอื่นเช่น Phase contrast เพื่อจะได้ศึกษารายละเอียดของเซลล์และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในรายละเอียดระดับสูงขึ้น

3. ด้านการเพาะเลี้ยงฟองน้ำ

- ควรมีการเพาะเลี้ยงเซลล์ Archaeocyte Choanocyte Pinacocyte โดยแยกเซลล์ ทำให้บริสุทธิ์แล้วนำเซลล์แต่ละชนิดไปสกัดสารเคมีเพื่อดูว่าสารเคมีที่มาจากฟองน้ำชนิดนี้สร้างมาจากเซลล์ชนิดใดในฟองน้ำ

- การเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ควรจะเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยง เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงในระยะยาวและปรับปรุงเปลี่ยนชนิดของอาหารมาเป็นอาหารผสมจากสาหร่ายรวมทั้งแบคทีเรียหลายชนิด และต้องควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 29 – 30 องศาเซลเซียส และความเค็มอยู่ระหว่าง 29 - 32 psu. อาจจะจัดชุดทดลองขึ้นมาเปรียบเทียบปัจจัยอุณหภูมิ และความเค็มในช่วงที่แตกต่างกันช่วงละน้อย เพื่อหาความเค็มและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงในห้องทดลอง

- การศึกษาชนิดของอาหารที่ฟองน้ำกรองกินจากมวลน้ำแล้วนำมาวิเคราะห์หาอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารเหมือนกับในธรรมชาติเพื่อจะได้นำมาเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงฟองน้ำในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาฟองน้ำในห้องปฏิบัติการได้ในระยะยาวขึ้น

- ในการเลี้ยงฟองน้ำในบ่อที่เป็นระบบปิดอาจใช้ระบบ Biofilter โดยมีแบคทีเรียเป็นตัวดึงแอมโมเนียไปใช้ เพื่อทำให้ปริมาณแอมโมเนียในระบบลดลง

- รูปแบบการเพาะเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ควรปรับปรุงการเลี้ยงมาเลี้ยงในกระชัง ในธรรมชาติและเลี้ยงที่ระดับความลึกที่ไม่อยู่ในอิทธิพลน้ำขึ้นน้ำลง เนื่องจากในเขตที่ได้รับอิทธิพลจากน้ำขึ้นน้ำลงจะมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความเค็มสูง ซึ่งไม่เหมาะกับการเติบโตของฟองน้ำ

ปัญหาการใช้ประโยชน์จากฟองน้ำ *Pachastrissa* sp.

จากการศึกษาสารสกัดในฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. พบว่าฟองน้ำชนิดนี้มีศักยภาพสูงทางด้านวงการแพทย์ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าฟองน้ำชนิดนี้มีการกระจายน้อยมากในธรรมชาติ และอัตราการเติบโตต่อปีน้อยมาก นอกจากนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงแหล่งที่พบตามธรรมชาติและปริมาณที่พบได้ในบริเวณอื่นในประเทศไทย การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าพื้นที่ปกคลุมตามธรรมชาติของฟองน้ำชนิดนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายปัจจัยกระทำร่วมกันทั้งปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอกและปัจจัยทางชีวภาพซึ่งควรมีการศึกษาต่อในรายละเอียด

ดังนั้นในการนำฟองน้ำไปใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมซึ่งต้องการฟองน้ำในปริมาณมากควรมีการศึกษานโยบายการเพาะเลี้ยงฟองน้ำชนิดนี้ในอนาคต ซึ่งจากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่จะนำฟองน้ำชนิดนี้มาเลี้ยงได้ แต่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาสภาพการเลี้ยงที่เหมาะสม แนวทางอีกแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. คือการศึกษาเพื่อสร้างสารสังเคราะห์ที่เลียนแบบโครงสร้างสารเคมีที่สกัดได้จากฟองน้ำแทนที่จะเก็บฟองน้ำจากธรรมชาติ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- คณิต สุวรรณบริรักษ์. 2545. บทความพิเศษ Marine Natural Products: ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเล แหล่งทรัพยากรอันทรงคุณค่าของประเทศไทย. ยานารู้. วารสารเภสัชกรรมสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ 51: 13-25.
- คณิต สุวรรณบริรักษ์. 2546. รายงานการศึกษาเบื้องต้น ภาควิชาเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (ไม่ตีพิมพ์).
- วนิดา เลาะศิริ, Fusetani, N., Matsunaga, S., จิรธรณ์ สังขศิลา, อติสรณ์ มนต์วิเศษ และวรรณภา กสิฤกษ์. 2536. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การศึกษาไบโอแอกทีฟ เมตตาไบโไลทของฟองน้ำในประเทศไทย. ทุนอุดหนุนการวิจัยปีงบประมาณ 2335-2536 สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ. 69 หน้า.
- สุเมตต์ ปลูกฉากร. 2547. ฟองน้ำ: เครื่องกรองน้ำทางชีวภาพในทะเล นานาสัตว์น้ำ ปีที่ 8 ฉบับที่ 2 (เล่มที่ 26) กรกฎาคม 2547: 29-30.

ภาษาอังกฤษ

- Akhtar, N., Saeed, A., and Iqbal, M. 2003. *Chlorella sorokiana* immobilized on the biomatrix of vegetable sponge of *Luffa cylindrica*: a new system to remove cadmium from contaminated aqueous medium. Bioresource Technology 88: 163-165.
- Amono, S., and Hori, I. 1992. Metamorphosis of calcareous sponge 1. Ultrastructure of free – swimming larvae. Invertebrate Reproduction and Development 21(2): 81-90.
- Armstrong, E., Mckenzie, J.D., and Goldsworth, G.T. 1999. Aquaculture of sponges on scallops for natural products research and antifouling. J. of Biotechnology 70: 163-174.

- Asa, S., Yeemin, T., Ruangsawang, N., and Chaitanawisuti, N. 1999. Ecology of a Marine Sponge, *Haliclona cf. coerulescens* from coral community in the gulf of Thailand. Proceedings^{9th} JSPS Sem. Mar. Fish. Sci. pp.157-163.
- Asa, S. 2000. Reproduction of sponge, *Petrosia* sp. (Porifera: Demospongiae: Haplosclerida: Petrosiidae) in coral communities of the inner gulf of Thailand. Master's Thesis. Department of Biology, Graduate School, Ramkhamhaeng University.
- Bandanayake, W.M., Bourne, D.J., and Sim, R.G. 1997. Chemical composition during maturing and spawning of the sponge *Dysidea herbacea* (Porifera: Demospongiae). Comp. Biochem. Physiol. 118B (4): 851-859.
- Barnes, R.S.K., Calow, P., Olive, P.J.W., and Golding, D.W. 1989. The Invertebrate a new synthesis. London, Scientific Publication Oxford. 582 pp.
- Bavestrello, G., Calcinai, B., Boyer, M., Cerrano, C., and Pansini, M. 2002. The aquiferous system of two *Oceanapia* species (Porifera, Demospongiae) studies by corrosion casts. Zoomorphology 121: 195-201.
- Bell, J.J. and Barnes, D.K.A. 2003. The importance of competitor identity, morphology and ranking methodology to outcomes in interference competition between sponges. Marine Biology. 143: 415-426.
- Bergquist P.R. 1978. Sponges. University of California Press. Berkeley and Los Angeles, Great Britain. 268 pp.
- Bonasoro, F., Wilkie, I.C., Bavestrello, G., Cerrano, C., and Carnevali, M.D.C. 2001. Dynamic structure of the mesohyl in the sponge *Chondrosia reniformis* (Porifera, Demospongiae). Zoomorphology 121: 109-121.
- Boury-Esnault, N., and Klaus, R. (eds.). 1997. Thesaurus of Sponge Morphology. Smithsonian Contributions to Zoology. Number 596. Marseille France. 55 pp.

- Boury-Esnault, N., and Vacelet, J. 1994. Preliminary studies on the organization and development of a hexactinellid sponge from a Mediterranean cave, *Oopsacas minuta*. Spong in Time and Space Balkema. Rotterdam. pp.407- 415.
- Boury-Esnault, N., Klautau, M., Bezac, C., Wulff, J., and Sole-Cava, A.M. 1999. Comparative study of putative conspecific sponge populations from both sides of the Isthmus of Panama. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 79: 39-50.
- Boury-Esnault, N. 1999. Porifera. In: K.G. Adiyodi and R.G. Adiyodi (eds.). Reproductive Biology of Invertebrates Vol. 9 Part A: Progress in Mail Gamete Ultrastructure and Phylogeny. New Delhi, Oxford & IBH. pp. 1-19.
- Brien, P. 1968. The Sponges, or Porifera. Chemical Zoology New York, USA. Academic Press 2: 1-30.
- Corriero, G., Liaci, L.S., Marzano, C.N., and Gaino, E. 1998. Reproductive strategies of *Mycale contarenii* (Porifera: Demospongiae). Marine Biology 131: 319-327.
- Cropper, Jr.W.P., Lirman, D., Tosini, S. C., DiResta, D., Luo, J., and Wang, J. 2001. Population dynamics of a commercial sponge in Biscayne bay, Florida. Estuarine, Coastal and Shelf Scienc 53: 13-23.
- Custodio, M. R., Hajdu, E., and Muricy, G. 2004. Cellular dynamics of in vitro allogenic reactions of *Hymeniacidon heliophila* (Demospongiae: Halichondria). Marine Biology 144: 999-1010.
- Duckworth, A.R., 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., and Battershill, C.N. 2003. Developing farming structures for production of biologically active sponge metabolites. Aquaculture 217: 139-156.

- Duckworth, A.R., Battershill, C.N., and Bergquist, P.R. 1997. Influence of explant procedures and environmental factors on culture success of three sponges. Aquaculture 156: 251-267.
- Duckworth, A.R., Sample, G.A., Wright, A.E., and Pomponi, S.A. 2003. In vitro culture of the tropical sponge *Axinella corrugata* (Demospongiae): effect of food cell concentration on growth, clearance rate, and biosynthesis of Stevensine. Mar. Biotechnol. 5: 519-527.
- Ereskovskii, A.V. 1999. Development of sponge of the Order Haplosclerida. Russian Journal of Marine Biology 25 (5): 361-371.
- Ereskovsky, A.V. and Goobobleva E.L. 2000. New data on embryonic development of *Halisarca dujadini* Johnston, 1842 (Demospongiae, Halisarcida). Zoosystema 22(2): 355-368.
- Ereskovsky, A.V. 2000. Reproductive cycles and strategies of cold water sponge *Halisarca dujadini* (Demospongiae, Halisarcida), *Myxilla incrustans* and *Iophon piceus* (Demospongiae, Poecilosclerida) From the White Sea. Biol. Bull. 198: 77-87.
- Fell, P.E. 1974. Porifera. In: A.C. Giese and J.S. Pearse (eds.). Reproduction of Marine Invertebrates Vol.1 Acoelomate and Pseudocoelomate Metazoan. New York and London, Academic Press. pp.51-132.
- Fell, P.E. 1983. Porifera. In: K.G Adiyodi and R.G. Adiyodi (eds.), Reproductive Biology of Invertebrate, Vol.1: Oogenesis, Oviposition and oosprtion, New York, Wiley. pp.1-29.
- Fell, P.E., Parry, E.H., and Balsamo, A.M. 1984. The life histories of sponges in the mystic and thames estuaries (Connecticus), with emphasis on larval settlement and postlarval reproduction. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 78: 127-141.

- Fell, P.E. 1993. Porifera *In*: K.G. Adiyodi and R.G. Adiyodi (eds.), Reproductive Biology of Invertebrates Vol. 6 Part A: Asexual Propagation and Reproductive Strategies, New Delhi, Oxford & IBH. pp.1-44.
- Fell, P.E. 1997. Poriferans, the Sponges. *In*: S. F. Dilbert, and A. M. Rannie (eds.), Embryology constructing the organism, USA, Sinauer Associates. pp. 39-54.
- Fernandez, R., Dherbomez, M., Letourneux, Y., Nabil, M., Verbist, J.F., and Biard, J.F. 1999. Antifungal metabolites from the marine sponge *Pachastrissa* sp.: new Bengamide and Bengazole derivatives. J. Nat. Prod. 62: 678-680.
- Fernandez-Busquets, X., Kuhns, W. J., Simpson, T.L., Ho, M., Gerosa, D., Marianne, Grob, and Burger, M.M. 2002. Cell adhesion related proteins as specific markers of sponge cell types involved in allogenic recognition. Developmental and Comparative Immunology 26: 313-323.
- Flowers, A.E., Garson, M.J., Webb, R.I., Dumdei, E.J., and Charan, R.D. 1998. Cellular origin of chlorinated diketopiperazines in the dictyoceratid sponge *Dysidea herbacea* (Keller). Cell Tissue Res. 292: 597-607.
- Franzen, A. 1996. Ultrastructure of spermatozoa and spermiogenesis in the hydrozoan *Cordyphora caspia* with comments on structure and evolution of the sperm in the Chaidaria and the Porifera. Invertebrate Reproduction and Development 29(1): 19-26.
- Frohlich, H., and Barthel, D. 1997. Silica uptake of the marine sponge *Halichondria panicea* in Kiel Bight. Marine Biology 128: 115-125.
- Fromont J. and Bergquist P.R. 1994. Reproductive biology of three sponge species of the genus *Xestospongiae* (Porifera: Demospongiae: Petrosida) from the Great Barrier Reef. Coral Reefs 13: 119-126.

- Fromont, J. 1994. Reproductive development and timing of tropical sponge (Order haplosclerida) from the Great Barrier Reef, Australia. Coral Reefs 13: 127-133.
- Fromont, J. 1999. Reproduction of some demosponges in a temperate Australian shallow water habitat. Memoirs of the Queensland Museum 44: 185-192.
- Fronzato, R., Bavestrello, G., Cerrano, C. Magnino, G., Manconi, R., Pantelis, J., Sara, A. & Siri, M.1999. Sponge farming in the Mediterranean Sea: new perspectives. Memoirs of the Queensland Museum 44: 485-491.
- Garson, M.J., Flower, A. E., Webb, R.I., Charan, R.D., and McCaffrey, E.J. 1998. A sponge/ dinoflagellate association in the haplosclerid sponge *Haliclona* sp.: cellular origin of cytotoxic alkaloids by percoll density gradient fractionation. Cell Tissue Res. 293: 365-373.
- Gemballa, S., and Schermutzki, F. 2004. Cytotoxic haplosclerid sponge preferred: a field study on the diet of the dotted sea slug *Peltodoris atromaculata* (Doridoidea: Nucibranchia). Marine Biology 144: 1213-1222.
- Giese, A.C., and Pearse, J.S. (eds.). 1974. Reproduction of marine invertebrates: Volume 1 Acoelomate and Pseudocoelomate Metazoans. New York and London, Academic Press. 483 pp.
- Gillor, O., Carmeli, S., Rahamin, Y., Fishelson, Z., and Ilan, M. 2000. Immunolocalization of the toxin latrunculin B within the Red Sea sponge *Negombata magnifica* (Demospongiae, Latrunculiidae). Mar.Biotechnol 2: 213-223.
- Ginn, B.K., Logan, A., and Thomas, M.L. H. 2000. Sponge Ecology on Sublittoral Hard Substrates in a High Current Velocity Area. Estuarine, Coastal and Shelf Science 50: 403-414.

- Harrison, F.W., and Westfall, J.A. (eds.). 1991. Microscopic anatomy of invertebrates
Volume 2: Placozoa, Porifera, Cnidaria, and Ctenophora. New York, Wiley-Liss,
Inc. 89 pp.
- Harrison, F.W. 1976. Aspects of Sponge Biology. Department of Anatomy Albany
Medical College Albany, New York. 354 pp.
- Hewer, C.D., and Harison, O.H. 1983. A method for recovering nanoplankton from filter
filters for identification with the microscope: The filter-transfer-freezing (FTF)
technique. Limnology and Oceanography 28(2): 389-394.
- Hickman, Jr.P.C., and. Roberts, S.L. 1994. Biology of animal. Sixth Edition. USA, Wm.
C. Brown Publisher. pp.403-439.
- Hill, M., Stabile, C., Steffen, L.K., and Hill, A. 2002. Toxic effect of endocrine disrupters
on freshwater sponges: common developmental abnormalities. Environmental
Pollution 117: 295-300.
- Hoffmann, F., Rapp, H.T., Zoller, T., and Reitner, J. 2003. Growth and regeneration in
cultivated fragments of the boreal deep water sponge *Geodia barretti*
bowerbank, 1858 (Geodiidae, Tetractinellida, Demospongiae). J. of
Biotechnology 100: 109-118.
- Hooper, J. N. A. 2000. Sponguide [online]. Available from:
[http://www.qmuseum.gld.gov. au/organization/sections/sessile Marine](http://www.qmuseum.gld.gov.au/organization/sections/sessile%20Marine%20Invertebrates/index.asp)
[Invertebrates/ index. asp](http://www.qmuseum.gld.gov. au/organization/sections/sessile Marine Invertebrates/ index. asp) [2003, July]
- Hooper, J.N.A., and Van Soest, R.W.M. 1907. Family Calthropellidae Lendenfeld. *In*:
John Hooper and Rob W.M. Van Soest (eds.), Systema Porifera: A Guide to the
Classification of Sponges, New York: N.A. Kluwer Academic/Plenum Publishers.
pp. 127-140.

- Hooper, J.N.A., and Van Soest, R.W.M. (eds.) 2002. *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges Volume 1*. New York, Kluwer Academic/ Publishers. 546 pp.
- Hooper, J.N.A., Kelly-Borges, M., and Riddle, M. 1993. *Oceanapia sagittaria* from the Gulf of Thailand. Memories of the Queensland Museum 33(1): 61-72.
- Hoppe, W.F. 1988. Reproductive patterns in three species of large coral reef sponge. Coral Reefs 7:45-50.
- Ilan, M., and Abelson, A. 1995. The life of a sponge in a Sandy lagoon. Biol. Bull. 189: 363-369.
- Kaandorp, J.A. 1995. Analysis and synthesis of radiate accretive growth in three dimensions. J. Theor. Biol. 175: 39-55.
- Kaye, H.R. 1991. Sexual reproduction in four Caribbean commercial sponge 1. Reproductive cycles and spermatogenesis. Invertebrate Reproduction and Development 19(1): 1-11.
- Kaye, H.R. 1991. Sexual reproduction in four caribbean commercial sponge 2. Oogenesis and transfer of bacterial symbionts. Invertebrate Reproduction and Development 19(1): 13-24.
- Kaye, H.R., and Reiswig, H. 1991. Sexual reproduction in four Caribbean commercial sponges III. Larval behaviour, settlement and metamorphosis. Invertebrate Reproduction and Development 19(1): 25-35.
- Kefalas, E. Castritsi-Catharios, J, and Miliou, H. 2003. Bacteria associated with the sponge *Spongia officinalis* as indicators of contamination. Ecological Indicators. 2: 339-343.

- Kelly-Borges, M. 1994. A simple Fool's guide to sponge Taxonomy Version 2. Zoology. Department Natural History. 103 pp.
- Kowalke, J. 2000. Ecology and energetics of two Antarctic sponges. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 247: 85-97.
- Kubo, K. and Kuroyanagi, Y. 2003. Characterization of a cultured dermal substitute composed of a spongy matrix of hyaluronic acid and collagen combined with fibroblasts. J. Artif Organs. 6: 138-144.
- Kuhns, W. J., Burger, M.M., and Misevic, G. 1995. Sulfotransferase activity in the marine sponge *Microcion prolifera* corelation with Sulfated Glycan adhesive structure. Biol.Bull. 189: 223-225.
- Kuhns, W.J., Ho, M., Burger, M.M., and Smolowitz, R. 1997. Apoptosis and tissue regression in the marine sponge *Microcion prolifera*. Biol. Bull. 193: 239-241.
- Kuroda, I., Musman, M., Ohtani, I.I., Ichiba, T., Tanaka, J., Gravalos, D.G. and Higa, T. 2002. Pachastrissamine, a Cytotoxic Anhydrophytosphingosine from a marine sponge, *Pachastrissa* sp. J. Nat. Prod. 65:1505-1506.
- Lee, H.H., Cho, H.Y., Lee, D.S., Kim, S-J, Sim, C-J. and Jung, J.H. 1997. Anticancer activities of marine symbiotic microorganism solate from Korean sponges. Poster session of the 2nd Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference and 3rd Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology. p.103. Phuket, Thailand.
- Levi, C. 1957. Ontogeny and systematics in sponges. Systematic Zoology 6(4): 174-183.
- Leys, S.P. 1995. Cytoslelatal architecture and organelle transport in giant syncytia formed by fusion of Hexactinellid Sponge tissues. Biol. Bull. 188: 241-254.
- Leys, S.P., and Lauzon, N.R.J. 1998. Hexactinellid sponge ecology: growth rates and seasonality in deep water sponges. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 230: 111-129.

- Leys, S.P., Cronin T.W., Degnan, B.M., and Marshall, J.N. 2002. Spectral sensitivity in a sponge larva. J. Comp. Physiol. A. 188: 199-202.
- Leys, S.P., and Degnan, B.M. 2001. Cytological basis of Photoresponsive Behavior in a sponge Larva. Biol. Bull. 201: 323-338.
- Maldonado, M., and Young, C.M. 1999. Effect of the duration of larval life on postlarval stages of the demosponge *Sigmadocia caerulea*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 232: 9-21.
- Mariani, S., Uriz, M.J., and Turon, X. 2000. Larval bloom of the oviparous sponge *Cliona viridis*: coupling of larval abundance and adult distribution. Marine Biology 137: 783-790.
- Marin, A., Lopez, M.D., Esteban, M.A., Meseguer, J., Munoz, J., and Fontana, A. 1998. Anatomical and ultrastructural studies of chemical defence in the sponge *Dysidea fragilis*. Marine Biology 131: 639-645.
- Mayer, A.M.S. 1999. Marine Pharmacology in 1998: Antitumor and Cytotoxic Compounds. The Pharmacologist 41(4): 159-164.
- McDonald, J.I., McGuinness, K.A. and Hooper, J.N.A. 2003. Influence of re-orientation on alignment to flow and tissue production in a *Spongia* sp. (Porifera: Demospongiae: Dictyoceratida). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 296: 13-22.
- Mercurio, M., Corriero, G., Liaci, L.S., and Gaino, E. 2000. Silica content and spicule size variations in *Pellinase mitubulosa* (Porifera: Demospongiae). Marine Biology 137: 87-92.
- Moroz, E., and Ilan, M. 1995. Life history characteristics of a coral reef sponge. Marine Biology 124: 443-451.

- Muller, W.E.G., Kruse, M., Blumbach, B., Skorokhod, A., and Muller, I.M. 1999. Gene structure and function of tyrosine kinases in the marine sponge *Geodia cydonium*: Autapomorphic characters of Metazoa. Gene 238: 179-793.
- Muller, W.E.G., Wimmer, W., Schatton, W., Bohm, M., Batel, R., and Filic, Z. 1999. Initiation of an aquaculture of sponges for the sustainable production of bioactive metabolites in open systems: example, *Geodia cydonium*. Marine Biotechnology 1: 569-579.
- Muller, W.E.G., Korzhev, M., Pennec, G.L., Muller, I.M., and Schroder, H.C. 2003. Origin of metazoan stem cell system in sponges: first approach to establish the model (*Suberites somuncula*). Biomolecular Engineering 20: 369-379.
- Nickel, M. and Brummer, F. 2003. In vitro sponge fragment culture of *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1847). Journal of Biotechnology 100: 147-159.
- Nickel, M., Leininger, S., Proll, G., and Brummer, F. 2001. Comparative studies on two potential methods for the biotechnological production sponge biomass. Journal of Biotechnology 92: 169-178.
- Osinga, R. 2003. Biotechnological aspects of marine sponges. J. of Biotechnology 100: 91-92.
- Osinga, R., Belarbi, E.H., Grima, E.M., Tramper, J., and Wijffels, R.H. 2003. Progress towards a controlled culture of the marine sponge *Pseudisuberites andrewsi* in a bioreactor. Journal of Biotechnology 100: 141-146.
- Osinga, R., De Beukelaer, P.B., Meijer, E.M., Tramper, J., and Wijffels, R.H. 1999. Growth of the sponge *Pseudosuberites* (aff.) *andrewsi* in a closed system. J. of Biotechnology 70: 155-161.
- Osinga, R., Tramper, J., and Wijffels, R.H. 1999. Cultivation of marine sponges. Marine Biotechnology 1: 509-532.

- Osinga, R., Tramper, J., and Wijffels R.H. 1998. Cultivation of marine sponges for metabolite production: applications for biotechnology? TIBTECH 16: 130-134.
- Pennec, G.L., Perovic, S., Ammar, M.S.A., Grebenjuk, V.A., Steffen, R., Brummer, F., and Muller, W.E.G. 2003. Cultivation of primmorphs from the marine sponge *Suberites domuncula*: morphogenetic potential of silicon and iron. Biotechnology 100:93-208.
- Reiswig, H.M. 1970. Porifera sudden sperm release by tropical demospongiae. Science 170:538-539.
- Reiswig, H.M. 1983. Porifera. *In*: Adiyodi K.G. and Adiyodi R.G. (eds.) Reproductive Biology of Invertebrates Vol.2 Spermatogenesis and Sperm function. New York, Wiley. pp.1-21
- Ribeiro, S.M., Omena, E.P., and Muricy, G. 2003. Macrofauna associated to *Mycale microsigmatosa* (Porifera Demospongiae) in Rio de Janeiro State, SE Brazil. Estuarine, Coastal and Shelf Science 57: 951-959.
- Rinkevich, B. 1999. Cell cultures from marine invertebrates: obstacles, new approaches and recent improvement. J. of Biotechnology 70: 133-153.
- Rosa, S.D., Caro, S.D., Tommorano, G., Slantchev, K., Stefanov, K., and Popov, S. 2001. Development in a primary cell culture of the marine sponge *Ircinia muscarum* and analysis of the polar compounds. Mar.Biotechnol. 3: 281-286.
- Rosa, S.D., Carlo, S.D., Iodice, C., Tommorano, G., Stefanov, K., and Popov, S. 2003. Development in primary cell culture of demosponges. J. of Biotechnology 100: 119-125.
- Rupert, E.E., and Barnes, R.D. 1994. Invertebrate Zoology. Sixth Edition. Saunders Collage Publishing, Fort Worth. 1056 pp.

- Rützler, K. and Diaz, M.C. 2001. Sponges: an essential component of Caribbean coral reefs. *Bulletin of Marine Science* 69(2): 535 – 546.
- Rützler, K. 1997. The Role of Psammobiontic sponge in the reef community. Proc 8th Coral Reef symposium: 1393-1397.
- Sara, M. 1992. Porifera. In: K.G. and Adiyodi R.G. (eds.), Reproductive Biology of Invertebrates Vol. 5: Sexual Difference and Behaviour. New Delhi, Oxford & IBH. pp.1-29.
- Sara, M. 1992. Sex in Porifera In: Dallai, R. (eds.), Sex origin and evolution. Select symposia and Monographs.U.Z.I pp. 45-57. Mucchi Modena.
- Sarano, F. 1991. Synchronized spawning in Indonesian sponges. Coral Reefs 10: 166.
- Schonberg, C.H.L., and Barthel, D. 1997. Inorganic skeleton of the demosponge *Halichondria panicea* seasonality in spicule production in the Baltic Sea. Marine Biology 130: 133-140.
- Schupp, P., Eder, C., Paul, V., and Proksh, P. 1999. Distribution of secondary metabolites in the sponge *Oceanapia* sp. and its ecological implications. Marine Biology 135: 573-580.
- Sciscioli, M., Ferri, D., Liquori, G.E., Lepore, E., and Santarelli, G. 2000. Lectin histochemistry and ultrastructure of microgranular cells in *Cinachyra tarentina* (Porifera, Demospongiae). Acta. histochem. 102: 219-230.
- Senior, K. 2002. Receptor sponge soaks up cancer cells. DDI. 7(7): 388-389.
- Sherman, I. W., and Sherman V.G. 1976. Porifera. In: Sherman, I. W. and Sherman V. G. (eds.), The Invertebrate Function and Form 2 editions. pp. 43-58. New York: Macmillan Publishing.

- Sherr, E.B. Caron, D.A., and Sherr, B.F. 1993. Staining of Heterotrophic Protists for Visualization via Epifluorescence Microscopy. *In*: P.F. Kemp, F. Sherr, E.B. Sherry, and J. J. Cole (eds.), Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis Publisher. pp. 213-227.
- Shield, C.J. and Witman, J.D. 1993. The impact of *Henricia sanguinolenta* (O.F. Müller) (Echinodermata: Asteroidea) predation on the finger sponges, *Isodictya* spp. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 166: 107-133.
- Sipkema, D., Wielink, R. V., Lammeren, A.A.M.V., Tramper, J., Osinga, R., and Wijffels, R.H. 2003. Primorphs from seven marine sponge: formation and structure. J. of Biotechnology 100: 127-139.
- Smith, D. L. 1977. Marine coastal plankton and marine invertebrate larvae. Department of Biology. West Valley Community College Saratoga, California. 161 pp.
- Trecek, P.V., Eisinger, M., Muller, J., Paster, M., and Schuhmacher, H. 2003. Mariculture trials with Mediterranean sponge species the exploitation of an old natural resource with sustainable and novel method. Aquaculture 218: 439-455
- Tsurumi, M., and Reiswig, H.M. 1997. Sexual versus asexual reproduction in an oviparous rope - form sponge, *Aphydina cauliformis* (Porifera; Verongida). Invertebrate Reproduction and Development 32(1): 1-9
- Uriz, M.J., Turon, X., Galera, J., and Tur, J. M. 1996. New light on the cell location of avarol within the sponge *Dysidea avara* (Dendroceratida). Cell Tissue Res. 285: 519-527.
- Uriz, M.J., Turon, X., and Beccerro, M. 2000. Silica deposition in Demosponges: spiculegenesis in *Crambe crambe*. Cell Tissue Res. 301: 299-309.

- Vacelet, J. 1998. Planktonic armoured propagules of the excavatine sponge *Alectona* (Porifera: Demospongiae) are larva: Evidence from *Alectona wallichii* and *A Mesatlanticaa* sp. Nov. Memories of the Queensland Museum 44: 627-642.
- Watanabe, Y., and Okada, K. 1998. The involvement of two carrier cells in fertilization and the Ultrastructure of the Spermicyst in *Sycon Calcarvavis* In: Watanabe, Y. and Yokoyama, N.F. (eds.), Sponge Science, Springer- Verlag. pp.193-202.
- Wilkinson, C.R. and Cheshire, A.C. 1989. Patterns in the distribution of sponge populations across the central Great Barrier Reef. Coral Reef 8: 127-134.
- Wilkinson, C.R. and Thomson, J.E. 1997. Experimental sponge Transplantation provides information on reproduction by fragmentation. Proc 8th Coral Reef symposium 2: 1417-1420.
- Willey, R.L. 1971. General routine for preparation of Tissue. Microtechniques: A Laboratory Guide. New York, Macmillan Publishing. pp. 5-21.
- Witte, U. 1994. Reproductive cycle and oogenesis of *Halichondria panicea* (Pallas) in Kiel Bight. In: Soest V., Kempen V. and Breakeman (eds.), Sponge in time and space. Balkema Rotterdam. pp.297-305.
- Wright, J.T., Benkendorff, K., and Davis, A.R. 1997. Habitat associated differences in temperate sponge assemblages: the importance of chemical defence. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 213: 199-213.
- Zhang, W., Xue, S., Zhao, X., Zhang, X., Li, J., Jin, M., Yu, X., and Yuan, Q. 2003. Biopotentials of marine sponge from China oceans: past and future. Biomolecular Engineering 20: 413-419.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 1 Description of sponge *Pachastrissa* sp. Description by Dr. John N.A.
Hooper Queensland Museum

Massive, subspherical, lobate growth form; dark brown exterior and pale beige interior in ethanol; oscules large, up to 5 mm. diameter, scattered over upper surface; texture is soft in life, compressible; surface is macroscopically smooth, even, unornamented. Ectosomal skeleton has a thin layer (up to 100 μm in places) of darkly pigmented collagen, with a tangential layer of medium-sized oxeas and microxeas, and moderately densely scattered oxyasters. Choanosomal skeleton is cavernous, particularly in subectosomal region, with large lacunae throughout; skeletal tracts are vaguely radial-radiate, with thin multispicular tracts becoming plumose, occasionally slightly sinuous, near the surface, cored by oxeas of all sizes and bound together with moderately dense collagen containing numerous oxeote and asterose microscleres; calthrops are not common and appear to be restricted to the subsurface region. Megascleres: two sizes of oxeas, both long, thin, curve centrally, very occasionally with modified stylote bases (230-280 \times 6-10 μm ; 580-755 \times 8-12 μm) Pseudocalthrops are thin, with very slender rays, either straight or slightly curved, without any modified terminations, resembling short-shafted triaenes (180-220 chord length, up to 100 μm ray length, 4-7 μm . Ray width) Microscleres: Microxeas, with slight centrangeulate curves or bulges, abundant (48-56 \times 3-5 μm .), oxyasters with small centrum, smooth rays (12-28 μm diameter). Remarks: This species is unusual in having unmodified calthrops resembling dichotriaene-like megascleres of other Astrophorida (such as the genus *Erylus* in family *Coppatiidae*), and in this respect differs from all other known species. It is probably new but cannot be formally described as such without a more thorough understanding of other members of the genus and allied genera.

ภาคผนวกที่ 2 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย บริเวณเกาะสี่ซังระหว่างเดือน มิถุนายน 46 ถึง มิถุนายน 47

| เดือน | อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | ความเค็ม (psu.) | ออกซิเจนละลาย (มิลลิกรัม / ลิตร) |
|----------|----------------------------|--------------------|-------------------------------------|
| มิ.ย. 46 | 30.57± 0.10 | 30.14±0.30 | 4.90±0.47 |
| ก.ค. 46 | 28.18±0.16 | 26.46±0.41 | 5.56±0.73 |
| ส.ค. 46 | 28.57±0.21 | 29.43±0.50 | 6.31±0.73 |
| ก.ย.46 | 28.60±0.20 | 25.78±0.43 | 6.21±0.57 |
| ต.ค.46 | 29.05±0.24 | 29.50±0.35 | 5.89±0.47 |
| พ.ย.46 | 26.50±0.24 | 30.50±0.09 | 5.33±0.42 |
| ธ.ค.46 | 26.55±0.19 | 31.90±0.13 | 7.15±0.07 |
| ม.ค.47 | 27.13±0.10 | 32.06±0.18 | 6.34±0.50 |
| ก.พ.47 | 27.40±0.16 | 32.73±0.12 | 6.36±0.50 |
| มี.ค.47 | 28.73±0.17 | 32.58±0.12 | 6.95±0.87 |
| เม.ย.47 | 31.94±0.26 | 33.00±0.18 | 6.47±0.03 |
| พ.ค.47 | 32.57±0.15 | 32.00±0.12 | 6.22±0.07 |
| มิ.ย.47 | 31.66±0.19 | 32.50±0.12 | 7.10±0.26 |

ข้อมูลจาก: สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสี่ซัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 3 น้ำหนักฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อ A) ในชุด
ทดลองเลี้ยงเบื้องต้นระหว่างเดือนมกราคม ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2546 (หน่วยเป็นกรัม)

| โคโลนี | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. | พ.ค. |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 7.2 | 7.4 | 10.6 | 10.9 | 10.1 |
| 2 | 8.2 | 8.4 | 8.7 | 8 | 6.7 |
| 3 | 13.3 | 15.1 | 16.3 | 16.3 | 12.3 |
| 4 | 13.6 | 15.9 | 19.8 | 22.6 | 20.5 |
| 5 | 17.8 | 17.8 | 19.7 | 22.8 | 16.6 |
| 6 | 17.8 | 21.2 | 21.4 | 23 | 20.5 |
| 7 | 18 | 19.3 | 28.9 | 35.6 | 31.1 |
| 8 | 18.6 | 20.8 | 23.5 | 23.4 | 18 |
| 9 | 18.8 | 23.2 | 31.4 | 28.1 | 24.5 |
| 10 | 20.6 | 21.3 | 24.3 | 25.9 | 23 |
| 11 | 21.4 | 21.8 | 22.6 | 23.9 | 17.8 |
| 12 | 23 | 22.8 | 33 | 36.6 | 33.2 |
| 13 | 23 | 27.5 | 29.9 | 35.8 | 28.8 |
| 14 | 23 | 25.9 | 29.2 | 35.3 | 27.3 |
| 15 | 24.4 | 28.8 | 38.2 | 47.1 | 33.2 |
| 16 | 25.8 | 26.1 | 26.1 | 29 | 23.5 |
| 17 | 28.5 | 30.1 | 37.3 | 31.4 | 25.3 |
| 18 | 31.1 | 34.2 | 41.6 | 43.4 | 40.7 |
| 19 | 39.6 | 50.4 | 58.5 | 70.4 | 55.6 |
| 20 | 41.5 | 42.4 | 53.4 | 58.3 | 56.1 |
| 21 | 50.6 | 51.9 | 52.8 | 52.3 | 53.3 |
| 22 | 50.7 | 54.2 | 69.7 | 78.8 | 85.6 |
| 23 | 51.6 | 50.4 | 56.5 | 59.8 | 52.8 |
| 24 | 55.7 | 56.6 | 78.2 | 86.6 | 89.1 |
| 25 | 62 | 66.3 | 73.1 | 79.1 | 75.1 |
| 26 | 73.8 | 75.8 | 78.2 | 81.9 | 79.4 |
| 27 | 77 | 73.7 | 73.1 | 73.8 | 72.7 |
| 28 | 83.6 | 98.5 | 133.8 | 157.2 | 171.8 |
| 29 | 83.7 | 96 | 119.1 | 135.2 | 147.9 |
| 30 | 91 | 95.7 | 102.9 | 101.4 | 91.5 |
| 31 | 93.2 | 93.2 | 125.9 | 141.4 | 181.8 |
| 32 | 102.8 | 107.2 | 126.1 | 132.2 | 113.2 |

ภาคผนวกที่ 4 น้ำหนักฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อ B) ในชุดทดลองเลี้ยง
เบื้องต้น ระหว่างเดือนมิถุนายนถึง ธันวาคม พ.ศ. 2546 (หน่วยเป็นกรัม)

| โคโลนี | มิ.ย. | ก.ค. | ส.ค. | ก.ย. | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| 1 | 10.1 | 7.2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 6.2 | 5.8 | 5.5 | 5.4 | 4.6 | 0 | 0 |
| 3 | 12.9 | 12.2 | 11.4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 19.6 | 18.4 | 16.9 | 14.8 | 13.1 | 0 | 0 |
| 5 | 20 | 18.5 | 16.8 | 15.4 | 13.1 | 11.6 | 8 |
| 6 | 14.9 | 14.7 | 14.7 | 12.3 | 11.6 | 3.8 | 4 |
| 7 | 29.9 | 27.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 18.4 | 17.8 | 17.5 | 17.3 | 18.3 | 15.9 | 13 |
| 9 | 24.6 | 24.1 | 23.7 | 20.5 | 18.1 | 16 | 13 |
| 10 | 22.6 | 16.8 | 11.2 | 9.3 | 8.4 | 5.9 | 3 |
| 11 | 15.8 | 14.4 | 13.4 | 12.3 | 11.7 | 6.1 | 0 |
| 12 | 25.8 | 23.1 | 20.4 | 18.2 | 17 | 13.3 | 9 |
| 13 | 27.5 | 25.3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | 34.9 | 28.8 | 23.2 | 19.5 | 17.3 | 13.3 | 0 |
| 15 | 31.4 | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | 22.2 | 21.2 | 18.9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | 23.7 | 22.6 | 19.8 | 18 | 15.6 | 0 | 0 |
| 18 | 38.7 | 33.3 | 28.3 | 25.8 | 21 | 3.9 | 3 |
| 19 | 53.1 | 49.5 | 46.1 | 40.8 | 38.6 | 28.2 | 0 |
| 20 | 50.3 | 44.1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | 46.7 | 41.7 | 36 | 31 | 27.2 | 0 | 0 |
| 22 | 87.7 | 72.4 | 61.7 | 51.7 | 48 | 32.4 | 0 |
| 23 | 50.9 | 49.6 | 47.6 | 44.6 | 41.4 | 36.6 | 0 |
| 24 | 88.1 | 85 | 81.9 | 78.5 | 76 | 69 | 57 |
| 25 | 72.8 | 67 | 64 | 60.6 | 59.1 | 55.4 | 0 |
| 26 | 71.6 | 65.4 | 59.1 | 52.6 | 45.8 | 30.9 | 0 |
| 27 | 61.7 | 56.1 | 51.4 | 47.2 | 41.1 | 0 | 0 |
| 28 | 172 | 165.3 | 152.7 | 137.8 | 132.5 | 117.7 | 116 |
| 29 | 142 | 134.6 | 128.1 | 122.1 | 117.2 | 107.5 | 0 |
| 30 | 84.2 | 70 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 31 | 113.2 | 110.1 | 106.7 | 106.9 | 102.7 | 90.6 | 87 |
| 32 | 95.5 | 88.8 | 81.4 | 71.8 | 63.2 | 35.4 | 0 |

ภาคผนวกที่ 5 น้ำหนักฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในบ่อเลี้ยงในชุดทดลองเลี้ยงเปรียบเทียบ 3 บ่อ ที่มีสภาพต่างกันระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ ถึง มิถุนายน 2547 (หน่วยเป็นกรัม)

| โคโลนี | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. | พ.ค. | มิ.ย. |
|--------|------|-------|-------|------|-------|
| C1 | 388 | 388 | 257 | 156 | 140 |
| C2 | 484 | 424 | 120 | 112 | 102 |
| C3 | 416 | 418 | 146 | 138 | 0 |
| C4 | 434 | 430 | 323 | 316 | 310 |
| C5 | 302 | 296 | 201 | 158 | 144 |
| C6 | 294 | 260 | 167 | 124 | 112 |
| D1 | 464 | 396 | 372 | 324 | 266 |
| D2 | 326 | 228 | 152 | 93 | 68 |
| D3 | 156 | 126 | 120 | 110 | 108 |
| D4 | 188 | 168 | 158 | 150 | 142 |
| D5 | 466 | 388 | 332 | 296 | 268 |
| D6 | 134 | 122 | 116 | 96 | 102 |
| E1 | 282 | 288 | 284 | 216 | 0 |
| E2 | 645 | 334 | 473 | 0 | 0 |
| E3 | 406 | 440 | 444 | 0 | 0 |
| E4 | 565 | 535 | 550 | 0 | 0 |
| E5 | 260 | 292 | 299 | 220 | 0 |
| E6 | 268 | 274 | 281 | 0 | 0 |

หมายเหตุ C1 – C6 น้ำหนักฟองน้ำที่เลี้ยงในบ่อรับน้ำจากระบบเลี้ยง (บ่อ C)

D1 – D6 น้ำหนักฟองน้ำที่เลี้ยงในบ่อในระบบเลี้ยง (บ่อ D)

E1 – E6 น้ำหนักฟองน้ำที่เลี้ยงในบ่อเก็บน้ำดิบ (บ่อ E)

ภาคผนวกที่ 6 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในชุดการทดลองเลี้ยงเบื้องต้น ระหว่างเดือนมกราคม ถึง เดือนธันวาคม 2546

| ปัจจัยสิ่งแวดล้อม | บ่อ A | บ่อ B |
|-------------------------|-------------|-------------|
| ความเค็ม (psu) | 32.03±0.081 | 29.10±0.141 |
| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | 28.75±0.132 | 29.02±0.080 |
| ออกซิเจนละลาย (mg/l) | 6.081±0.068 | 6.269±0.033 |
| ปริมาณแอมโมเนีย (mg/l) | 0.086±0.034 | 0.090±0.038 |
| ปริมาณไนไตรท์ (mg/l) | 0.132±0.067 | 0.050±0.028 |
| ปริมาณไนเตรท (mg/l) | 0.973±0.412 | 0.148±0.074 |
| ปริมาณฟอสเฟต (mg/l) | 0.007±0.003 | 0.030±0.014 |

หมายเหตุ บ่อ A เลี้ยงช่วงเดือนมกราคม – พฤษภาคม พ.ศ.2546

บ่อ B เลี้ยงช่วงเดือนมิถุนายน – ธันวาคม พ.ศ.2546

ภาคผนวกที่ 7 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ในชุดการทดลองเปรียบเทียบบ่อที่มีสภาพต่างกัน ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ ถึงมิถุนายน 2547

| ปัจจัยสิ่งแวดล้อม | บ่อ C | บ่อ D | บ่อ E |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|
| ความเค็ม (psu) | 32.71±0.101 | 32.51±0.107 | 32.67±0.084 |
| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | 28.92±0.205 | 28.77±0.204 | 30.01±0.225 |
| ออกซิเจนละลาย (mg/l) | 5.107±0.737 | 6.64±0.186 | 7.21±0.235 |
| ปริมาณแอมโมเนีย (mg/l) | 0.062±0.018 | 0.033±0.004 | 0.027±0.004 |
| ปริมาณไนไตรท์ (mg/l) | 0.043±0.023 | 0.031±0.015 | 0.003±0.000 |
| ปริมาณไนเตรท (mg/l) | 0.782±0.262 | 0.377±0.072 | 0.202±0.053 |
| ปริมาณฟอสเฟต (mg/l) | 0.036±0.011 | 0.025±0.007 | 0.033±0.009 |

หมายเหตุ ระบบการเลี้ยงฟองน้ำ *Pachastrissa* sp. ทั้งหมด เลี้ยงในระบบการเลี้ยงสัตว์ทะเลที่มีระบบน้ำไหลผ่านตลอดของสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายชาติรี ฤทธิทอง เกิดวันจันทร์ที่ 10 กรกฎาคม พ.ศ. 2521 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลายจากโรงเรียนเบญจมราชูทิศ จังหวัดนครศรีธรรมราช ในปีการศึกษา 2539 และสำเร็จการศึกษาระดับวิทยาศาสตร์บัณฑิต จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ เมื่อปีการศึกษา 2543 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ระหว่างทำการศึกษาได้รับทุนผู้ช่วยสอนในปีการศึกษา 2544 และปีการศึกษา 2545 ส่วนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT T_146012 ในปีการศึกษา 2546 และเงินทุนวิจัยบางส่วนจากทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปีการศึกษาเดียวกัน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย