น้ำหน้า 0.20

ชื่อเรื่อง : ผลของอุณหภูมิน้ำและความเค็มต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเล (Scylla serrata, Forskal 1775)

Title : Effects of water temperature and salinity on embryological eggs' development of Mud Crab (Scylla serrata, Forskal 1775)

ชื่อเจ้าของผลงาน : ดร.สัมพันธ์ ทองหนูนุ้ย (Mr. Sampan Tongnunui)
สังกัด : ภาควิชาชีววิทยาเชิงอนุรักษ์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี
ชื่อแหล่งทุน : ชนม์ภัทรฟาร์มและศูนย์เครื่องมือกลางมหาวิทยาลัยมหิดลวิทยาเขตกาญจนบุรี
ผู้วิจัยร่วม : สุภัทร ประสพศิลป์
สังกัด : ภาควิชาชีววิทยาเชิงอนุรักษ์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี
ผู้วิจัยร่วม : นายสิทธิพัฒน์ แผ้วฉ่ำ
สังกัด : ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
ผู้วิจัยร่วม : ชนม์ภัทร์ฟาร์ม
สังกัด : ชนม์ภัทร์ฟาร์ม

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของอุณหภูมิน้ำและความเค็มที่ระดับแตกต่างกันต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลจากชุดการทดลอง 4 ชุดการทดลอง ชุดที่ 1 (อุณหภูมิ 25 °C และความเค็ม 25 พีพีที) ชุดที่ 2 (อุณหภูมิ 27 °C และความเค็ม 27 พีพีที) ชุดที่ 3 (อุณหภูมิ 29 °C และความเค็ม 29 พีพีที) และชุดที่ 4 (อุณหภูมิ 31 °C และความเค็ม 31 พีพีที) ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลสามารถแบ่งออกได้ทั้งหมด 9 ระยะตามลำดับการพัฒนาของเซลล์ไข่ และพบว่าระดับของอุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเล คือ ที่ชุดการทดลองที่ 1 ปูทะเลมีเปอร์เซ็นต์การรอดสูงสุดอยู่ที่ 56.2% และเปอร์เซ็นต์การรอดเท่ากับ 30.9%, 16.2% และ 4.3% ในชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

คำสำคัญ : ปูทะเล การพัฒนาของเซลล์ไข่ อุณหภูมิน้ำ ความเค็ม

Abstract

The effects of water temperature and salinity levels on embryological egg development were designed into four treatments comprising : (1) 25 °C and 25 ppt; (2) 27 °C and 27 ppt; (3) 29 °C and 29 ppt; (4) 31 °C and 31 ppt; respectively. Embryological egg development was classified into 9 stages based on morphological developments of egg cells. The treatments were differently in % survival. Treatment (1) was the highest giving 56.2% survival while treatments (2), (3) and (4) were approximately 30.9%, 16.2% and 4.3% survival, respectively.

Keyword : Scylla serrata, embryological eggs development, water temperature, salinity
E-mail address : sampan_02@hotmail.com

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปูทะเลเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สามารถทำประมงได้และเป็นอาชีพที่สำคัญของการทำประมงพื้นบ้าน เพราะปูทะเลเป็นสัตว์น้ำที่มีราคาแพงเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (ธิดารัตน์ คงชัยและคณะ, 2554; สนธยาและคณะ, 2560) และพื้นที่ทำประมงสามารถทำประมงได้ในเขตพื้นที่ป่าชายเลนและปากแม่น้ำ และชายฝั่งทั้งในประเทศไทยและในเขต Indo - Pacific และเป็นสัตว์ชนิดที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรและธุรกิจของบริษัทด้านสัตว์น้ำในการเพาะเลี้ยงในระบบฟาร์มเป็นอย่างมาก (Sheen and Wu, 1999; Keenan, 1999) ผลผลิตปูทะเลส่วนใหญ่เกิดจากการจับจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียวทั้งในประเทศไทยและรวมถึงในต่างประเทศด้วยเช่น ประเทศฟิลิปินส์ จีน มาเลเซีย และญี่ปุ่น และในขณะเดียวกันลูกพันธุ์ปูทะเลยังมีปริมาณน้อยมาก (Trino et al., 1999; Ruscoe et al., 2004; Ikhwanuddin et al., 2011) ถึงแม้ว่าจะมีการเพาะเลี้ยงลูกพันธุ์ได้จากโรงเพาะฟักแต่อัตราการรอดค่อนข้างต่ำ และการลงทุนในการเพาะเลี้ยงค่อนข้างสูงและใช้เวลาเลี้ยงค่อนข้างนาน (Baylon and Failaman, 1998a, b; Blackshaw, 1998) ทำให้ปูทะเลถูกจับมาจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียวจึงก่อให้เกิดปัญหาการลดลงของประชากรปูทะเลในธรรมชาติอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของป่าชายเลนที่ถูกทำลายจากกิจกรรมของมนุษย์ด้วย (อำนวย 2551; ศรีประภา, 2551) และการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปเพื่อนำมาเลี้ยงปูทะเลในเชิงพาณิชย์ยังต้องอาศัยข้อมูลและเทคนิคการเพาะเลี้ยงอีกมาก (Brick, 1974; Chaoshu, 1998; Ruscoe et al., 2004) นอกจากนี้การขุนพ่อแม่พันธุ์และการเลี้ยงปูวัยอ่อนตลอดจนวิธีการเลี้ยงยังต้องพัฒนาเทคนิคอีกหลาย ๆ ด้านเพื่อที่จะได้วิธีที่เหมาะสม

สำหรับในประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นและพบปูทะเลมีการแพร่กระจายอยู่ตลอดในแนวเขตชายฝั่งทั้งฝั่งอันดามันและฝั่งอ่าวไทย จากข้อมูลการศึกษาการกระจายของแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มลูกกุ้งปูพบว่ามีการกระจายอยู่ทั้งในแนวเขตชายฝั่งในระยะทางประมาณ 10 ตารางกิโลเมตรและมีความชุกชุมมากในแนวเขตชายฝั่งและป่าชายเลน ซึ่งสอดคล้องกับการวางไข่ของปูทะเลที่มีการวางไข่ในแนวเขตทะเลเปิดจึงทำให้ลูกปูทะเลในระยะแพลงก์ตอนสัตว์มีการเคลื่อนย้ายตามมวลน้ำทะเลเข้ามายังบริเวณชายฝั่งและพัฒนาเป็นลูกปูวัยอ่อนในเขตชายฝั่งและป่าชายเลนซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยคุณภาพน้ำตามระดับการขึ้นลงของน้ำทะเลและปัจจัยจากการสผมกันของมวลน้ำจืดและน้ำเค็มในบริเวณปากแม่น้ำตามลักษณะของอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของปริมาณน้ำฝนในแต่ละฤดูกาล

การศึกษาถึงอิทธิพลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางด้านเคมีและกายภาพคือ อุณหภูมิและความเค็มที่ส่งผลต่อการพัฒนาเซลล์ไข่ปูทะเลนั้นเป็นการออกแบบการทดลองที่ให้สอดคล้องกับนิเวศวิทยาของลูกปูทะเลตั้งแต่ระยะแพลงก์ตอนสัตว์จนถึงระยะลูกปูวัยอ่อนนั้นซึ่งเป็นช่วงชีวิตของลูกปูที่มีการเคลื่อนย้ายจากทะเลเปิดจนถึงชายฝั่ง ซึ่งปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมของระดับความเค็มและอุณหภูมิจะมีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนตามระยะทางจากทะเลเปิดจนถึงแนวเขตชายฝั่ง ปัจจัยสิ่งแวดล้อมจึงมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องและส่งผลต่อการพัฒนาและการเจริญเติบโตของลูกปูทะเล ดังนั้นการศึกษาถึงระยะต่าง ๆ ในระดับวิทยาเอ็มบริโอหรือคัพภวิทยาต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วต่อระดับอิทธิพลของความเค็มและอุณหภูมิจึงมีความสำคัญมาก เพื่อนำผลการศึกษามาประยุกต์ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงลูกปูทะเลจากห้องปฏิบัติการสามารถยกระดับการเพาะเลี้ยงเชิงพานิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของระดับอุณหภูมิน้ำและความเค็มต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูตั้งแต่ระยะคลีเวจ (barry stages) จนถึงระยะลูกปูวัยอ่อน (first crab)
2. เพื่อศึกษาระยะต่างๆของการพัฒนาเซลล์ไข่ปูทะเลที่ระดับของอุณหภูมิน้ำและความเค็ม
3. เพื่อศึกษาอัตราการรอดของการพัฒนาเซลล์ไข่ปูทะเล

กรอบแนวคิดในการวิจัยและวรรณกรรมสนับสนุนกรอบแนวคิด

ประเทศไทยได้มีการทำประมงปูทะเลอย่างมากจากตลอดชายฝั่งตั้งแต่แนวเขตอันดามันและอ่าวไทยและสามารถพบเห็นปูทะเลมีจำหน่ายอยู่ทั่วไปในท้องตลาดและเริ่มมีปริมาณจำนวนลดน้อยลง เพราะเกิดจากความต้องการบริโภคปูทะเลที่มีอัตราเพิ่มขึ้นส่งผลให้ชาวประมงมีความต้องการที่จะจับปูทะเลเพิ่มขึ้นตามความต้องการของตลาดทำให้ปูทะเลที่ถูกจับมีขนาดที่เล็กลงไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ จึงส่งผลต่อการผลิตลูกพันธุ์ปู (Stocks) หรือการทดแทนโดยธรรมชาตินั้นไม่สามารถรักษาประชากรให้อยู่ในสภาวะที่สมดุลได้ ดังนั้นการเริ่มศึกษาวิจัยเพื่อที่จะสามารถผลิตลูกพันธุ์ปูวัยอ่อนเพื่อเป็นการหาแนวทางเพิ่ม stock ให้กับธรรมชาติเพื่อให้เกิดการทดแทนได้ ซึ่งเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาการขาดแคลนทรัพยากรธรรมชาติที่กำลังลดน้อยลงและอาจจะเข้าสู่สภาวะขาดแคลนหรือสูญพันธุ์ได้จึงจะสามารถลดภาวะความเสี่ยงของการขาดแคลนและวิกฤตของสัตว์น้ำต่อการสูญพันธุ์ได้

สำหรับปัจจัยสิ่งแวดล้อมหรือคุณภาพน้ำเป็นส่วนสำคัญเป็นอย่างมากต่ออัตราการรอด ระยะเวลาในการลอกคราบ และการพัฒนาของลูกปูทะเลในระยะต่าง ๆ โดยจะได้รับอิทธิพลจากทั้งปัจจัยทางด้านเคมีและฟิสิกส์ โดยเฉพาะอุณหภูมิและความเค็ม จากการศึกษาของ Zeng and Li (1992) และ Baylon et al., (2001) พบอัตราการรอดของลูกปูทะเลที่อัตราที่แตกต่างกันในแต่ละระยะของลูกปูที่เลี้ยงตามสภาวะการออกแบบการทดลองที่มีระดับของอุณหภูมิน้ำและความเค็มที่แตกต่างกันและสอดคล้องกับการศึกษาของ Hamasaki et al., (2003), Nurdiani and Zeng (2007) และ Ates et al., (2011) ที่ให้ผลการทดลองที่เหมือนกัน แต่สำหรับปูทะเลในประเทศไทยไม่ได้มีการศึกษาการพัฒนาของตัวอ่อนในระดับวิทยาเอ็มบริโอ (Embryology) หรือคัพภวิทยาที่ปัจจัยสิ่งแวดล้อมสามารถส่งผลต่อการพัฒนาตั้งแต่เซลล์ไข่ที่เริ่มต้นพัฒนาให้เป็นตัวอ่อน ดังนั้นรายงานวิจัยเรื่องนี้สามารถบอกถึงอิทธิพลของระดับอุณหภูมิน้ำและระดับความเค็มที่ส่งผลต่อการพัฒนาตัวอ่อนของเซลล์ไข่ปูทะเลเพื่อนำไปสู่การพัฒนาการเพาะเลี้ยงลูกปูทะเลในระบบเชิงพานิชย์ได้

ขอบเขตของการวิจัย

เพื่อศึกษาถึงผลของระดับอุณหภูมิน้ำและระดับของความเค็มที่มีผลต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลและการจัดจำแนกระยะ ๆ ต่างของการพัฒนาเซลล์ไข่ปูทะเลเพื่อนำไปสู่การพัฒนาในการเพาะเลี้ยงต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

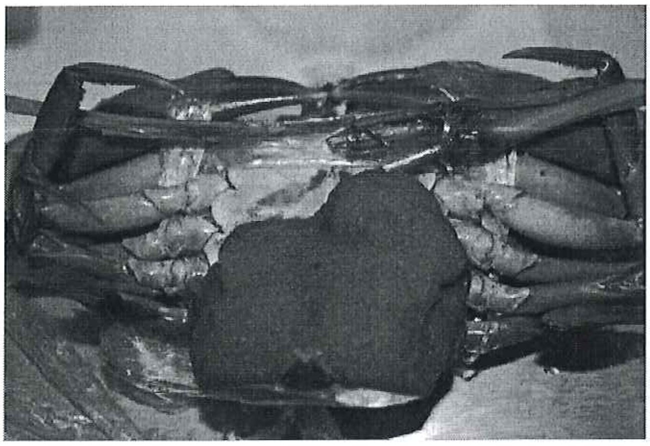
การออกแบบการทดลองมาจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำและระดับความเค็มของระบบนิเวศตั้งแต่แนวเขตทะเลเปิดประมาณ 10 กิโลเมตร ซึ่งที่ทะเลลึกอุณหภูมิจะต่ำกว่าชายฝั่งและความเค็มจะสูงกว่าชายฝั่งแต่จะเปลี่ยนแปลงน้อยและสามารถพบปูทะเลออกไปวางไข่ ส่วนในเขตชายแนวฝั่งที่สามารถพบการกระจายตัวของแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มของลูกกุ้งปู อุณหภูมิและความเค็มจะเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง จึงนำมากำหนดเป็นทรีทเมนต์ของอุณหภูมิน้ำที่ 25 - 31 องศาเซลเซียส และระดับความเค็มที่ 25 - 31 พีพีทีเพื่อทำการทดลองเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ

แม่พันธุ์ปูทะเลในระยะมีไข่นอกกระดองได้เก็บตัวอย่างมาจากเขตอำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรีโดยวิธีวางลอบพับ ซึ่งจะได้แม่ปูที่มีไข่นอกกระดองซึ่งอยู่ในระยะแบรี่ (barry stages) ที่มีขนาดใหญ่และสมบูรณ์เพราะเป็นพื้นที่ในบริเวณป่าชายเลนที่ชุมชนให้ความสำคัญกับการอนุรักษ์ทรัพยากรปูทะเลซึ่งเป็นทรัพยากรที่มีความสำคัญต่ออาชีพการทำประมงในเขตอำเภอขลุงจังหวัดจันบุรีเป็นอย่างมาก การศึกษาวิจัยจึงสามารถนำไปสู่การแก้ไขปัญหาเชิงพื้นที่ได้ (สัมพันธ์และคณะ 2560)

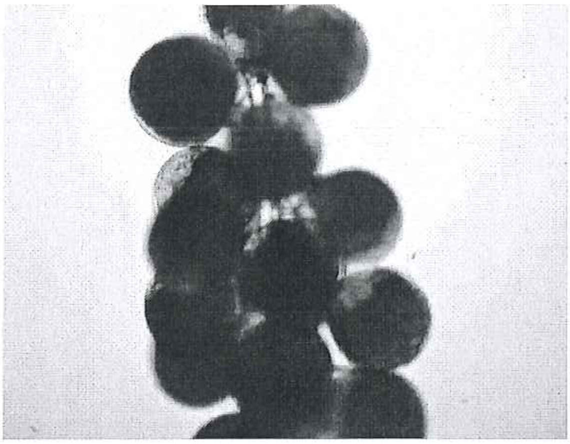
นำแม่ปูทะเลที่มีไข่นอกกระดอง (ระยะแบรี่) ที่จับได้ด้วยลอบพับ (ภาพที่ 1 A) มายังห้องปฏิบัติการแบบควบคุมอุณหภูมิ ทำการปล่อยแม่ปูทะเลลงในถังขนาด 30 ลิตรและมีปริมาตรน้ำเค็มเทียมที่ระดับ 25 ลิตรและมีระดับอุณภูมิน้ำที่เท่ากับจุดที่เก็บตัวอย่างมาจากจุดเก็บแม่พันธุ์ปู พร้อมกับให้ออกซิเจนอย่างต่อเนื่องที่ปริมาณ > 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้แม่ปูทะเลเกิดความเครียดน้อยที่สุดเป็นเวลา 48 ชม. หลังจากนั้นนำแม่ปูทะเลมาแยกไข่ออกจากจับปิ้งด้วยวิธีปลอดเชื้อ ซึ่งลักษณะของเซลล์ไข่จะติดกันเหมือนผลองุ่น (ภาพที่ 1 B) แล้วทำการแยกไข่ปูออกเป็นฟองเดี่ยว ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ภาพที่ 1 C และ D) แล้วทำการนับให้ได้จำนวน 1,200 ฟอง โดยแยกใส่บิกเกอร์ๆละ 400 ฟองและให้ออกซิเจนตลอดเวลา

การเตรียมน้ำและการควบคุมอุณหภูมิในห้องทดลอง

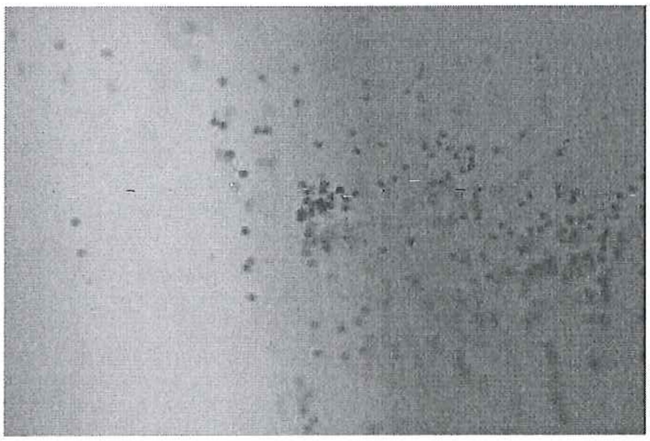
ทำการเตรียมน้ำเค็มเทียมให้ได้ระดับความเค็มที่ 25, 27, 29 และ 31 พีพีที (ppt) และหลังจากนั้นนำน้ำไปใส่กล่องพลาสติกที่มีฮีทเตอร์ขนาด 300 วัตต์ และหัววัดอุณภูมิ (Thermocouple type J, SD ± 0.3 C) โดยใช้เป็นระบบควบคุมอุณหภูมิ (Thermoregulation) และทำการปรับอุณหูมิน้ำให้ได้ที่ระดับ 25, 27, 29 และ 31 องศาเซลเซียส และมีปั๊มลมให้ออกซิเจนอย่างต่อเนื่อง ซึ่งออกซิเจนที่ละลายในน้ำจะต้องไม่ต่ำกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตรตลอดเวลา ของแต่ละชุดการทดลอง หลังจากนั้นจึงนำไข่ปูทะเลในระยะคลีเวจ (Cleavage) ใส่ลงในตู้ทดลอง จากนั้นจะทำการเก็บตัวอย่างเซลล์ไข่ปูทะเลในระยะต่างๆทุก 6 ชม. และบันทึกการพัฒนาลักษณะโครงสร้าง (Morphological structures) การเกิดเม็ดสี (pigments) วัดขนาด ของไข่ปูจนถึงระยะที่ไข่ปูสามารถพัฒนาเป็นระยะปูวัยอ่อน ในระหว่างทำการทดลองจะควบคุมคุณภาพน้ำคือ แอมโมเนีย (< 0.001 มิลลิกรัม/ลิตร) ความเป็นกรด - ด่าง (7.2 - 8.0) ออกซิเจน (> 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร) ช่วงแสงอยู่ที่ 12 : 12 ชม. ของรอบวัน และทำการถ่ายเปลี่ยนน้ำในตู้ทดลองประมาณ 40% ในทุก ๆ 48 ชม. เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพน้ำไม่ให้มีผลกระทบต่อการทดลอง สำหรับอาหารของลูกปูทะเลในระยะซูเอียจะให้ด้วยไข่แดงต้มสุก และเมื่อลูกปูทะเลพัฒนามาเป็นระยะแมกะโลปาจะให้ด้วยแพลงก์ตอนพืชชนิดคีโตเซอรอส (Chaetoceros sp.) ที่เตรียมจากฟาร์มเพาะเลี้ยง



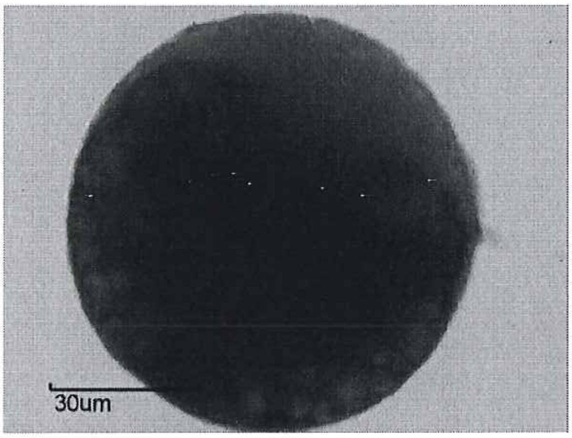
A : ไข่ปูนอกกระดอง



B : เซลล์ไข่ที่ติดกันเหมือนผลองุ่น



C : เซลล์ไข่ที่แยกออกเป็นเซลล์เดี่ยวเพื่อนับจำนวน



D : เซลล์เดี่ยวไข่ปูทะเล

ภาพที่ 1 A-D การแยกเซลล์ไข่ปูทะเลด้วยวิธีปลอดเชื้อจากตำแหน่งจับปิ้งให้ได้เป็นเซลล์เดี่ยว

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

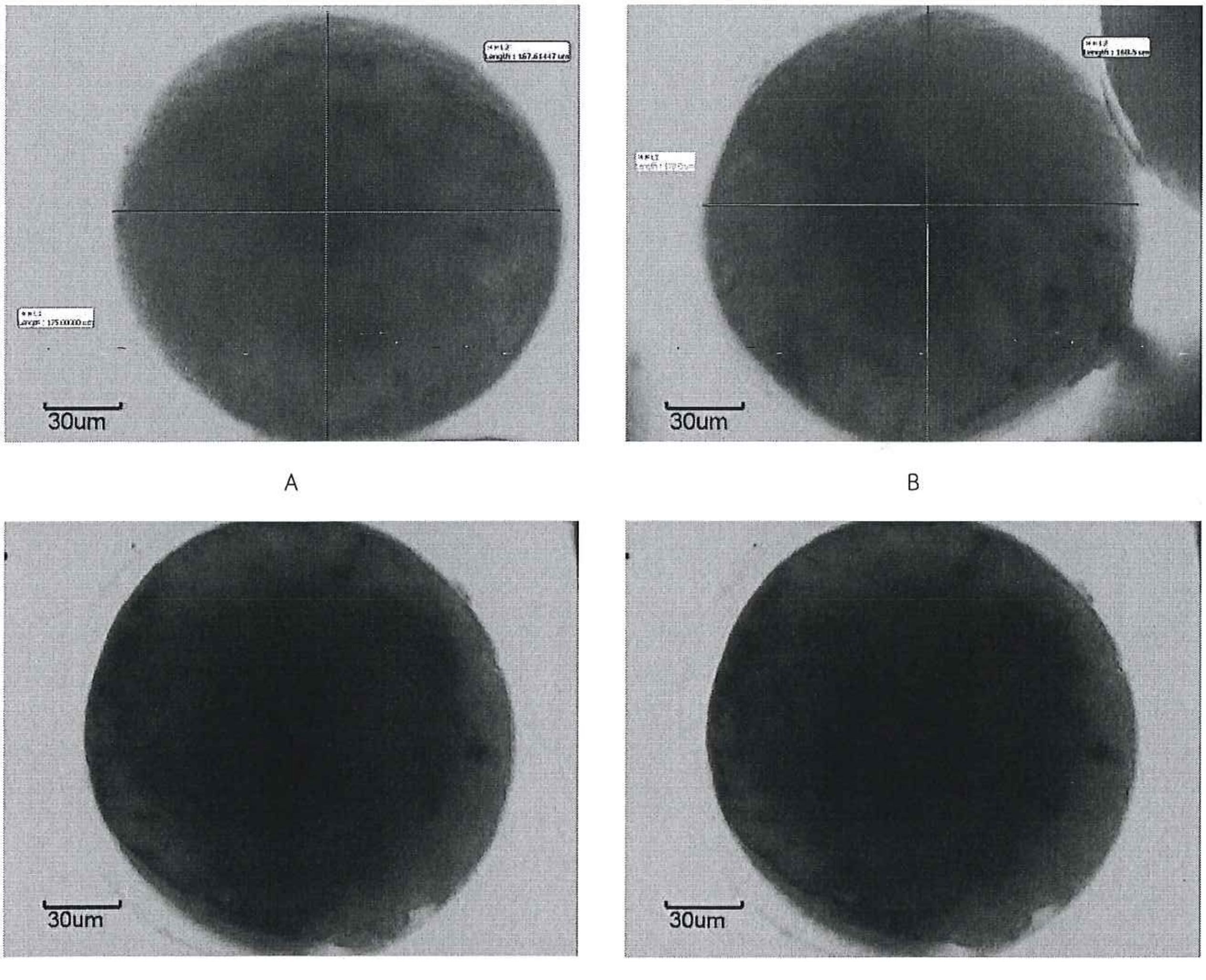
ทำการออกแบบการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) โดยประกอบด้วย ชุดการทดลองทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 อุณหภูมิน้ำ 25 องศาเซลเซียลและระดับความเค็ม 25 พีพีที, ชุดการทดลองที่ 2 อุณหภูมิน้ำ 27 องศาเซลเซียลและระดับความเค็ม 27 พีพีที, ชุดการทดลองที่ 3 อุณหภูมิน้ำ 29 องศาเซลเซียลและระดับความเค็ม 29 พีพีที, และชุดการทดลองที่ 4 อุณหภูมิน้ำ 31 องศาเซลเซียลและระดับความเค็ม 31 พีพีที ในแต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย 3 ซ้ำ ดังนั้นในแต่ละชุดการทดลองจะใช้ไข่ปูทั้งหมด 1200 ฟอง จำนวนซ้ำละ 400 ฟอง ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี ANOVA โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดการทดลองและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเป็นคู่ (Multiple comparison test) ด้วยวิธี Tukey HSD (Honestly Significant Difference) และใช้ค่าระดับการตัดสินในที่ $p < 0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 14.5 ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิจัย

การพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเล

เซลล์ไข่ปูทะเลสามารถแยกออกเป็นระยะได้ทั้งหมด 9 ระยะ โดยสามารถแยกออกเป็นระยะย่อย ๆ ได้ดังนี้

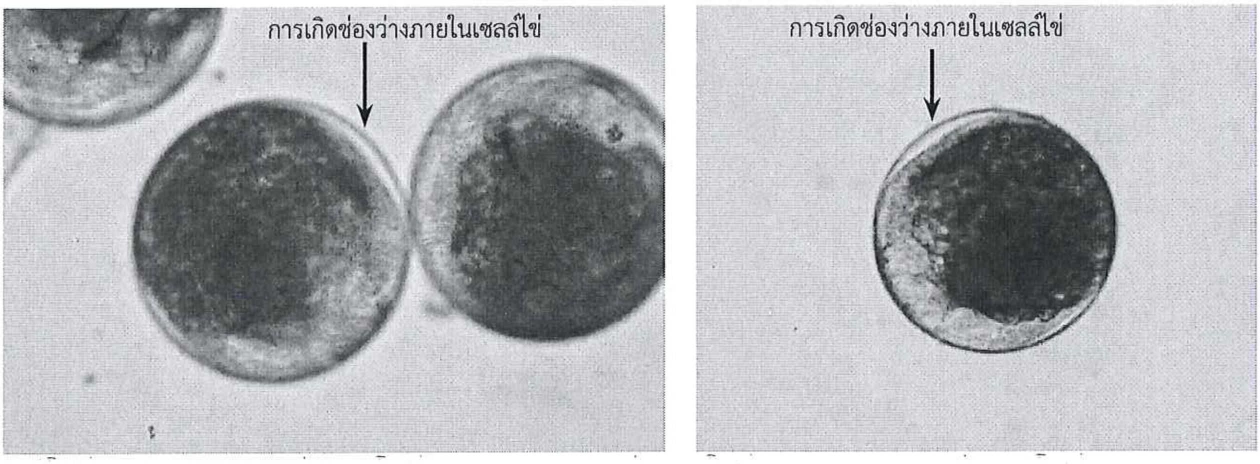
1. ระยะคลีเวจ (Cleavage stages) (ภาพที่ 2 A-D) เซลล์ไข่ปูทะเลจะมีลักษณะเป็นทรงกลม มีขนาดประมาณ 174 ± 9.0 ไมโครเมตร ระยะนี้จะมีไข่แดง (yolk) ที่หนา มองเห็นเป็นสีเหลืองทอง เซลล์ไข่มีลักษณะกลมเป็นเนื้อเดียวไม่มีความแตกต่างภายในเซลล์ และเป็นระยะที่เซลล์ไข่กำลังเตรียมเพื่อที่จะแบ่งเซลล์ ซึ่งเป็นระยะที่พบได้ตั้งแต่ไข่ปูเริ่มปล่อยออกมาจากช่องท้องมายังตำแหน่งของจับปิ้งของปูเพศเมียถ้าสังเกตด้วยตาเปล่าจะเห็นไข่เป็นสีเหลืองหรือสีเหลืองทอง



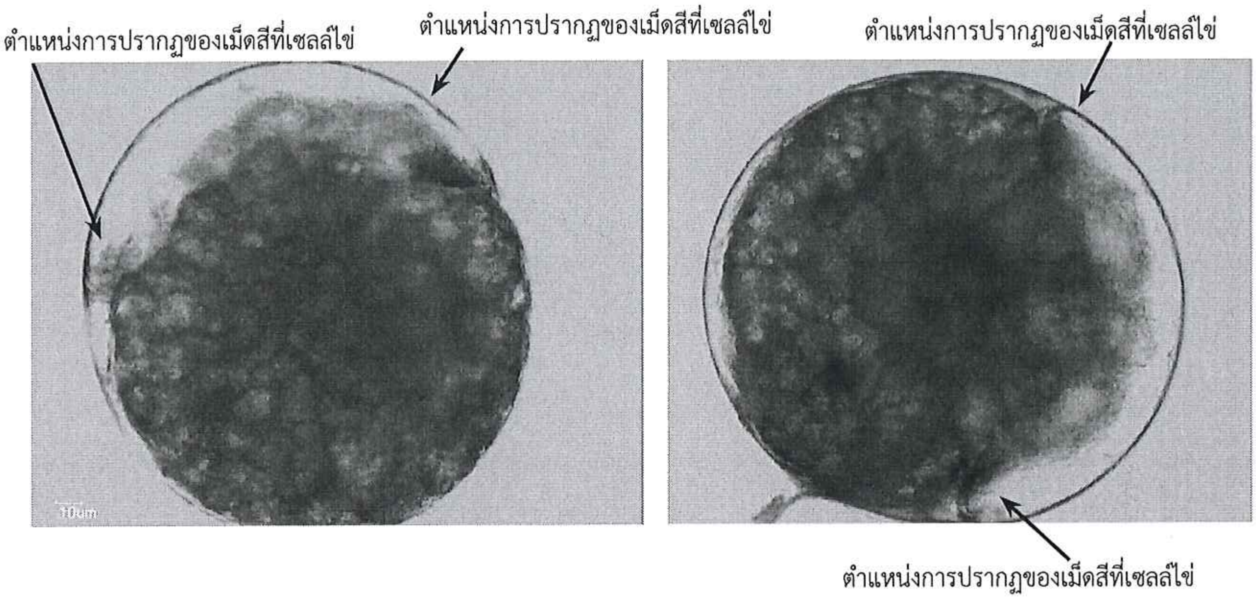
ภาพที่ 2 A - D เซลล์ไข่ปูทะเลระยะคลีเวท (Cleavage stage)

2. ระยะบลาสตูลา (Blastura stages) (ภาพที่ 3) เป็นระยะที่เซลล์ไข่ปูเริ่มมีการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเริ่มเห็นเป็นช่องว่างใสภายในเซลล์ตรงตำแหน่งด้านข้างของเซลล์และรูปร่างของเซลล์ยังไม่เปลี่ยนแปลง

3. ระยะแกสตรูลา (Gastrula stages) (ภาพที่ 4) เซลล์เริ่มมีการพัฒนามากขึ้น โดยมีการรวมตัวของไข่แดง (yolk) ไปทางด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์และเปิดช่องว่างบริเวณของขอบเซลล์ส่วนหัวอย่างชัดเจน และเริ่มมีเม็ดสี (Pigment) ปรากฏขึ้น และเม็ดสีมีลักษณะเป็นสีแดง แดง - ม่วง หรือแดง - ส้ม ตรงตำแหน่งด้านข้างซ้ายและข้างขวาของเซลล์ ซึ่งจะพัฒนาต่อไปเป็นออร์แกนของตาปูทะเล



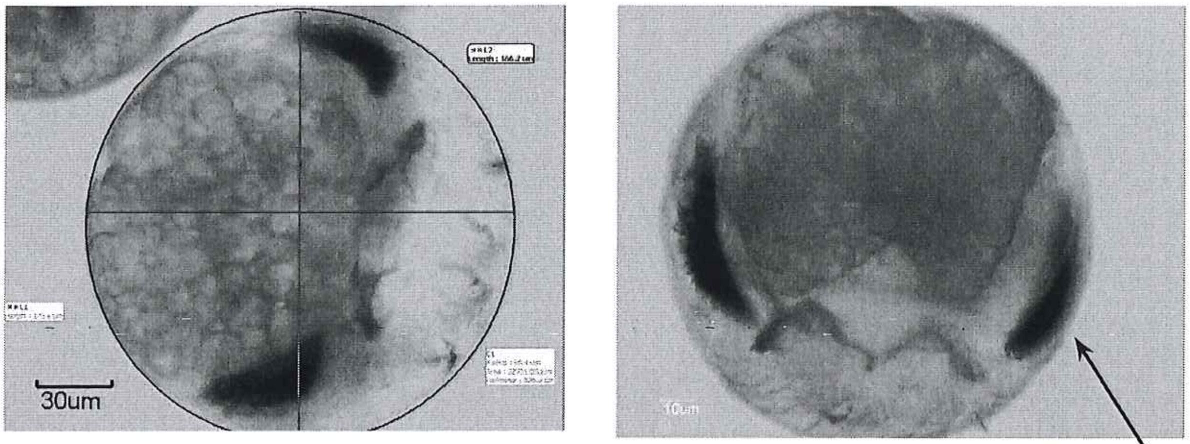
ภาพที่ 3 เซลล์ไข่ปูทะเลระยะบลาสตูลา (Blastula stage)



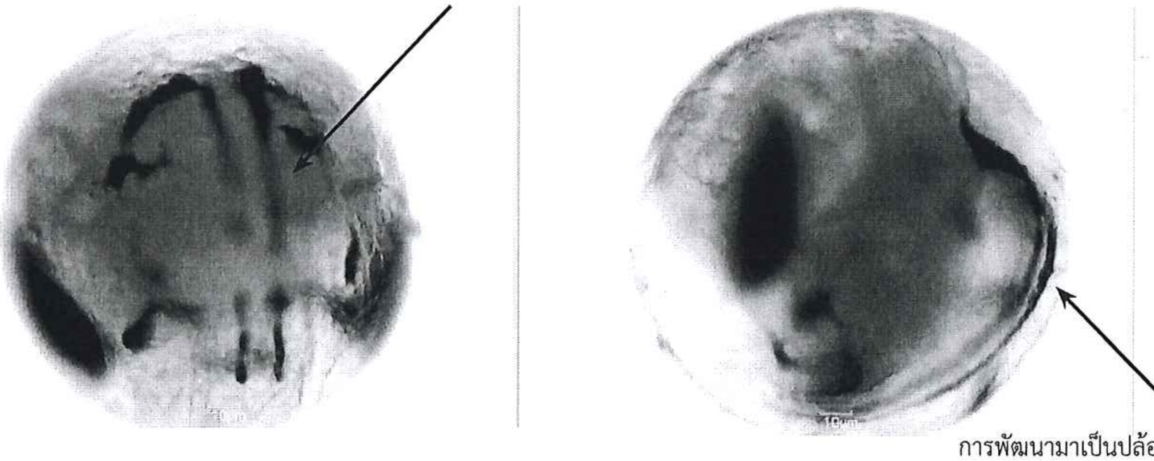
ภาพที่ 4 ระยะแกสตรูลา (Gastrula stages)

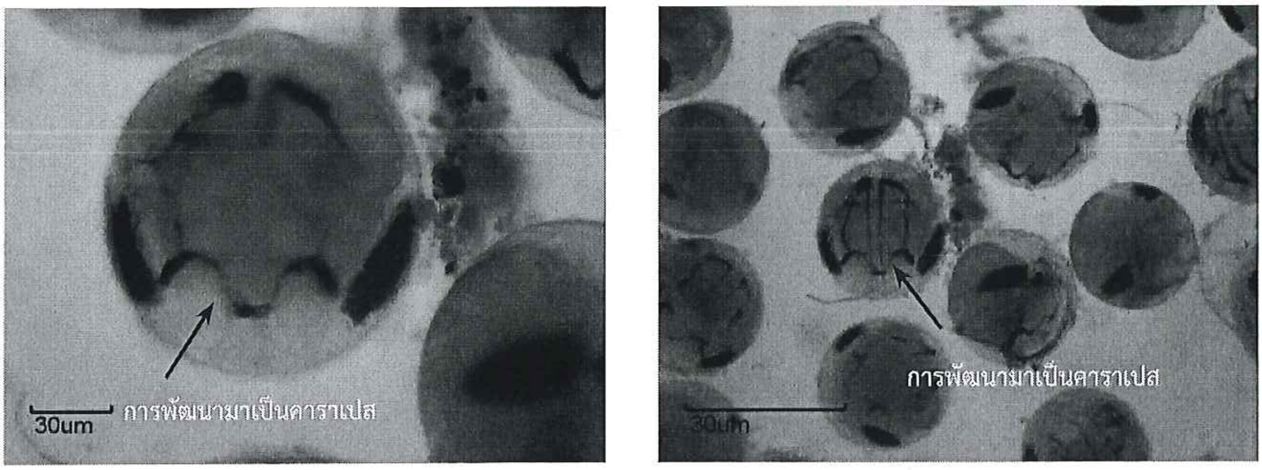
4. ระยะการปรากฏของตา (Eye placode stages) (ภาพที่ 5) ระยะนี้ไข่แดง (yolk) จะมารวมกันประมาณ ¼ ของขนาดเซลล์ และเห็นเป็นช่องว่างอย่างชัดเจน และมีการปรากฏของแหล่งกำเนิดตาเป็นเม็ดสี มีลักษณะเป็นสีแดงม่วง หรือดำแดง เป็นลักษณะยาวรีและโค้งมน ตรงบริเวณตำแหน่งเกือบกึ่งกลางของเซลล์

5. ระยะการสร้างคาราเปสและปล้องท้อง (Formation of Carapace and Abdomen stages) (ภาพที่ 6) ระยะนี้ไข่ปูทะเลจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองมาเป็นสีน้ำตาลเข้มเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า ระยะนี้จะเห็นตาเด่นชัดมากขึ้นและจะมีเม็ดสีปรากฏเป็นสีน้ำตาลเข้มจนเกือบเป็นสีดำ เพราะมีการพัฒนาออร์แกนส่วนของคาราเปสและปล้องท้อง โดยจะเห็นเป็นรูปทรงของคาราเปสและปล้องท้องเชื่อมต่อกับตำแหน่งของตาอย่างชัดเจน และลักษณะของปล้องท้องจะเป็นก้านคู่สองเส้น และเส้นก้านของปล้องท้องจะโค้งงอไปตามขอบด้านในของเซลล์หรือภายในของเปลือกไข่ปูอย่างชัดเจน



ภาพที่ 5 ระยะการปรากฏของตาที่พัฒนาเต็มที่ (Eye placode stage)





ภาพที่ 6 ระยะการสร้างคาราเปสและปล้องท้อง (Formation of Carapace and abdomen stages)

6. ระยะการเต้นของหัวใจ (Heartbeat stages) (ภาพที่ 7 A - D) ระยะนี้เซลล์ไข่ปูทะเลจะมีการพัฒนาเม็ดสีอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะตำแหน่งที่จะมีการพัฒนาไปเป็นออร์แกนต่าง ๆ ซึ่งเซลล์ไข่ปูในระยะนี้จะเห็นเป็นสีดำเข้ม หรือมองด้วยตาเปล่าจะเห็นเป็นสีน้ำตาลเข้มมาก ๆ เกือบทั้งเซลล์และมีการเชื่อมต่อออร์แกนทั้งคาราเปส ตา และปล้องท้องตลอดทั้งเซลล์ และไข่แดงจะมีปริมาณลดลง โดยสังเกตจากช่องว่างภายในเซลล์ไข่จะเห็นเป็นลักษณะโปร่งแสง (ภาพที่ A - B) ระยะนี้ไข่ปูทะเลจะลดขนาดลงเล็กน้อยซึ่งจะมีขนาดค่าเฉลี่ยขนาดของไข่อยู่ที่ 155 ± 9.7 ไมโครเมตร

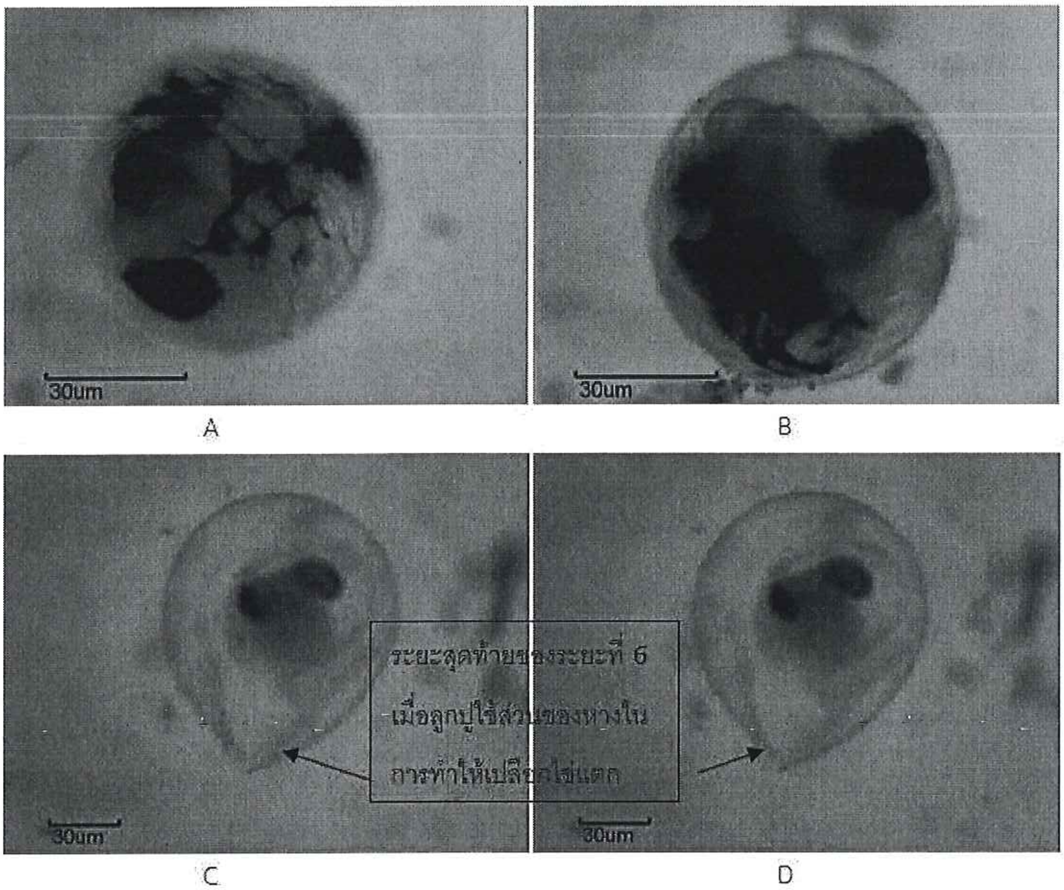
ระยะนี้จะมองเห็นว่าเซลล์ไข่ปูทะเลจะมีการเต้นเป็นจังหวะเพราะเกิดจากเซลล์ได้พัฒนาส่วนของหัวใจขึ้นมาตลอดตั้งแต่ระยะที่ 1 - 5 จึงสามารถเห็นการเต้นของหัวใจเป็นจังหวะตรงตำแหน่งภายในของเซลล์ไข่ปูทะเล การเต้นของหัวใจจะเต้นอยู่ที่ระดับประมาณ 40 - 200 ครั้งต่อนาที ก่อนที่ตัวอ่อนจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างชัดเจนเมื่อออกจากเซลล์ไข่ จากระยะรูปทรงกลมของเซลล์ไข่มาเป็นระยะแพลก์ตอนสัตว์ชั่วคราวหรือ ระยะซูเอีย (Zoea) ระยะการเต้นของหัวใจเซลล์ไข่จะพัฒนาเต็มที่ในส่วนของหาง (Telson) ซึ่งจะใช้ออร์แกนส่วนนี้ในการทำให้เปลือกไข่แตกเพื่อให้ตัวอ่อนออกมาในน้ำได้ (ภาพที่ 7 C - D) แต่จะเจอได้ยากและระยะนี้จะเป็นระยะสุดท้ายที่เซลล์ไข่จะใช้ไข่แดง (yolk) ในการพัฒนาตัวอ่อนจนหมด

7. ระยะซูเอีย (Zoea stages) (ภาพที่ 8) เป็นระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากเซลล์ไข่มาเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ชั่วคราว และจะมีหนาม (spine) ตรงส่วนหัวยื่นยาวออกมา และในระยะนี้สามารถล่องลอยไปตามกระแสน้ำหรือสามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ส่วนของปล้องท้องและหาง (telson) ในการเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระและสามารถหาอาหารในมวลน้ำทะเลหรือจะกินกลุ่มแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหารหลัก ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 10 - 13 วันในการที่จะพัฒนาต่อไปเป็นระยะแมกะโลปา (Megalopa)

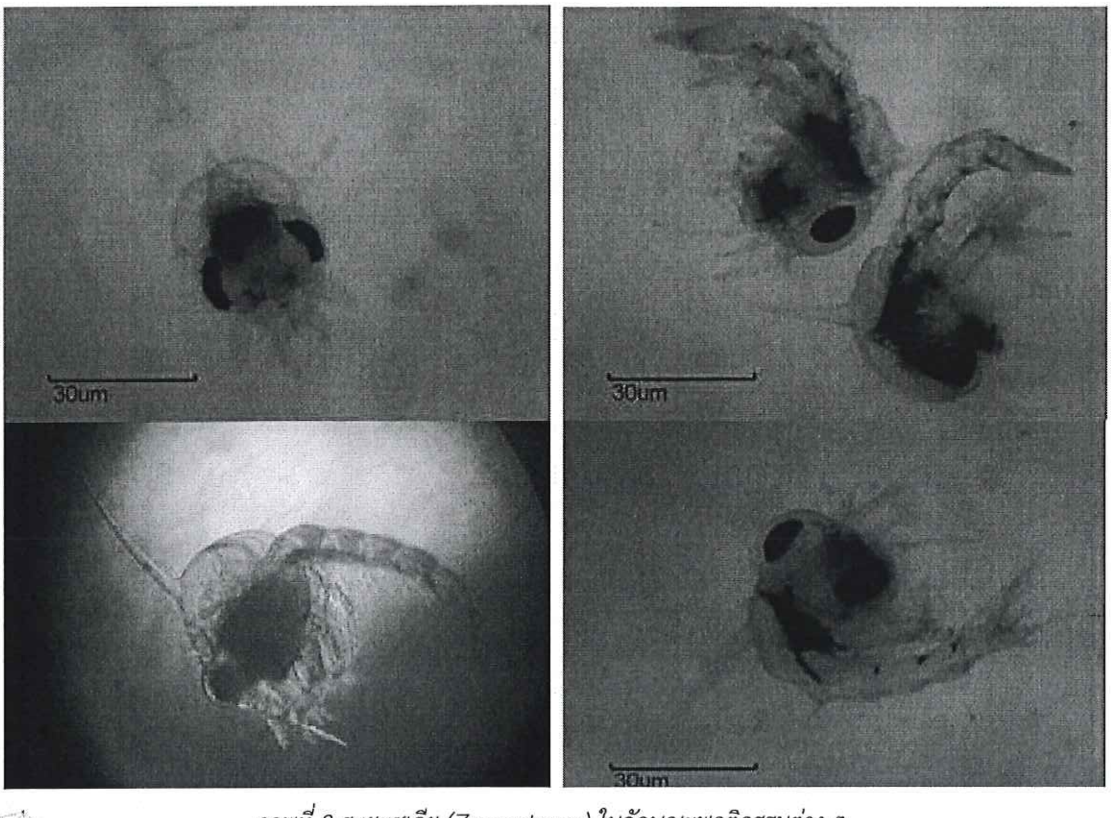
8. ระยะแมกะโลปา (Megalopa stages) (ภาพที่ 9) ระยะนี้ลูกปูจะเริ่มพัฒนาอวัยวะต่าง ๆ อย่างเห็นได้ชัด เช่น ก้านตา ก้าม หัว กระดอง และขาว่ายน้ำ ซึ่งลูกปูจะใช้เวลาประมาณ 5 วันแล้วจะพัฒนาไปเป็นลูกปูในระยะลูกปูวัยอ่อน (first crab)

9. ระยะลูกปูวัยอ่อน (first crab stages) (ภาพที่ 10) เป็นระยะที่ลูกปูมีอวัยวะเหมือนกับปูตัวเต็มวัยทุกประการแต่จะมีขนาดที่เล็กกว่าและไม่สามารถแยกเพศได้และสามารถเคลื่อนที่โดยใช้ระยางค์หรือขาว่ายน้ำได้

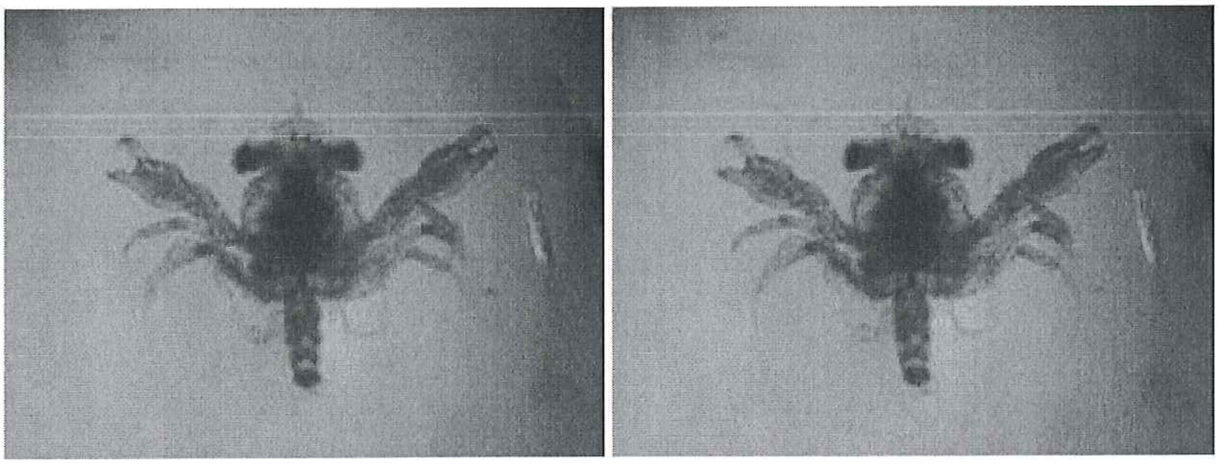
การเต้นของหัวใจจะเห็นชัดที่ตำแหน่งตรงกลางของเซลล์ไข่



ภาพที่ 7 A - D ระยะการเต้นของหัวใจ (heartbeat stage)



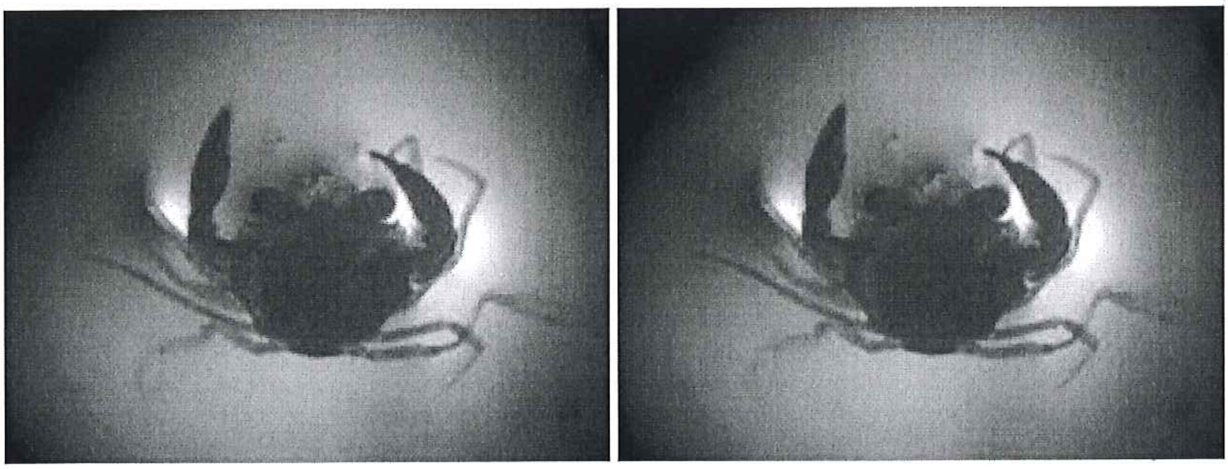
ภาพที่ 8 ระยะซูเอีย (Zoea stages) ในลักษณะพฤติกรรมต่าง ๆ



ภาพที่ 9 ระยะแมกะโลปา (Megalopa)

ผลของอุณหภูมิน้ำและระดับของความเค็ม

การพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลตั้งแต่ระยะคลีเวจ (ระยะที่ 1) จนถึงระยะการสร้างคาราเปสและปล้องท้อง (ระยะที่ 4) ของแต่ละชุดการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 ซึ่งเซลล์ไข่ปูทะเลทั้ง 4 ชุดการทดลองสามารถพัฒนาเซลล์ไข่ได้ในทุกระดับความเค็มจาก 25 - 31 พีพีที และในทุกระดับของอุณภูมิน้ำตั้งแต่ 25 - 31 องศาเซลเซียล จึงสามารถบอกได้ว่าที่ระดับความเค็มและอุณหภูมิดังกล่าวจะไม่ส่งผลกระทบต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลตั้งแต่ระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 4 ตามลำดับ โดยใช้เวลาทั้งหมด 2 วัน อย่างไรก็ตามที่ชุดการทดลองที่ 1 (ความเค็ม 25 พีพีที, อุณหภูมิน้ำ 25 องศาเซลเซียล) เซลล์ไข่ปูทะเลจะมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะการเต้นของหัวใจได้ดีกว่า ซึ่งในวันที่ 3 ของชุดการทดลองที่ 1 เซลล์ไข่ปูสามารถพัฒนาเข้าสู่ระยะที่ 5 ได้ ก่อนชุดการทดลองที่ 2 - 4 ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 - 4 เซลล์ไข่ปูทะเลจะพัฒนาเข้าสู่ระยะการเต้นของหัวใจที่ระยะเวลาเท่ากันโดยใช้เวลาที่ 5 วัน ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบช่วงเวลาในการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลตั้งแต่ระยะคลีเวจจนถึงระยะลูกปูวัยอ่อน (first crab) ของชุดการทดลองทั้ง 4 ชุด พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 คือ การพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลของชุดการทดลองที่ 1 จะใช้เวลาในการพัฒนาทั้งหมดเป็นเวลาเฉลี่ยประมาณ 10 ± 2 วัน ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2, 3, 4 จะใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 13 ± 2, 15 ± 3 และ 17 ± 3 วันตามลำดับ ดังนั้นเซลล์ไข่ปูทะเลจะสามารถพัฒนาได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่ต่ำและความเค็มที่ต่ำประมาณ 25 พีพีทีและอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียล เมื่อเปรียบเทียบกับ 4 ชุดการทดลอง ตามลำดับ



ภาพที่ 10 ระยะลูกปูวัยอ่อน (first crab)

เปอร์เซ็นต์การรอด

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดของลูกปูทะเลที่เลี้ยงในระดับอุณหูมิและความเค็มที่แตกต่างกัน 4 ชุดการทดลอง พบว่า ผลของระดับอุณหภูมิของน้ำและระดับความเค็มต่อเปอร์เซ็นต์การรอดของลูกปูทะเลตั้งแต่ระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 9 ของชุดการทดลองทั้ง 4 ชุด ซึ่งพบว่าการพัฒนาของลูกปูวัยอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดที่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 (ตารางที่ 1) คือเปอร์เซ็นต์การรอดสูงสุดอยู่ที่ชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งพบอัตราการรอดอยู่ที่จำนวน 291 ± 25.5 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดได้เท่ากับ 56.2% ซึ่งเป็นอัตราการอดสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 พบว่าอัตราการอดอยู่ที่จำนวน 144 ± 11.5 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดได้ที่ 31% ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 3 และ 4 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดที่ระดับ 16.2% และ 4.3% ตามลำดับ (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การรอดของไข่ปูที่พัฒนาจากไข่ระยะบลาสตลูลาจนถึงระยะลูกปูวัยอ่อนที่เลี้ยงในระดับอุณหภูมิและความเค็ม 4 ระดับในห้องปฏิบัติการแบบควบคุมอุณหภูมิ

Level of Temperature (°C) + Salinity (ppt)	Survival (%)
25 °C + 25 ppt	56.2*
27 °C + 27 ppt	30.9*
29 °C + 29 ppt	16.2*
31 °C + 31 ppt	4.3*

*มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 (Multiple comparison - Tukey HSD testing, $p < 0.05$)

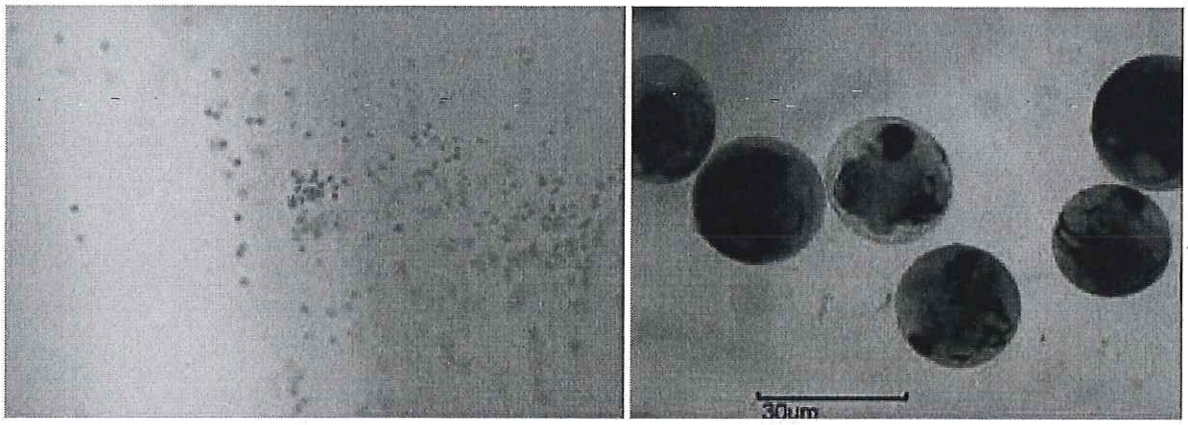
การอภิปรายผล

การพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลนั้นสามารถแบ่งแยกได้หลายระยะด้วยกันซึ่งขึ้นอยู่กับการจัดจำแนกและระยะที่พบในการแบ่งเซลล์ในระยะต่าง ๆ ของเซลล์ไข่ปูทะเลกับความละเอียดของระยะเวลาในตรวจดูตัวอย่างเซลล์ไข่ของการทดลอง อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ซึ่งเป็นการรายงานครั้งแรกที่ทำการแบ่งระยะการพัฒนาของเซลล์ไข่ของปูทะเล *(Scylla serrata Forskal)* ที่มีการแพร่กระจายอยู่ในเขตแนวชายฝั่งของประเทศไทย ซึ่งเซลล์ไข่ปูทะเลสามารถแบ่งเป็นระยะต่าง ๆ ได้ทั้งหมด 9 ระยะด้วยกันคือ (1) ระยะคลีเวจ (Cleavage stages) (2) ระยะบลาสตูลา (blastura stages) (3) ระยะแกสตรูลา (Gastrula stages) (4) ระยะการปรากฏของตา (Eye placode stage) (5) ระยะการสร้างคาราเปสและปล้องท้อง (Formation of Carapace and Abdomen stages) (6) ระยะการเต้นของหัวใจ (Heartbeat stages) (7) ระยะซูเอีย (Zoea stages) (8) ระยะแมกะโลปา (Megalopa stages) (9) ระยะลูกปูวัยอ่อน (first crab) ซึ่งระยะที่ 1 - 3 และ ระยะที่ 5 - 8 ได้มีการแบ่งเซลล์และเปลี่ยนแปลงรูปร่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Samuel and Soundarapandian (2010) ได้แบ่งระยะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไข่ปูทะเล (S. serrata) ได้ 6 ระยะคือ เริ่มต้นที่ระยะบลาสตูลา แกสตูลา การปรากฏของตา ระยะปรากฏเม็ดสี (pigment stage) ระยะการเต้นของหัวใจ และสิ้นสุดที่ระยะซูเอีย และ Ates et al., (2011) ได้แบ่งระยะการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเล 3 ชนิด คือ *S. serrata, S. tranquebarica* และ *S. olivacea* ได้ทั้งหมด 10 ระยะ เริ่มจากระยะก่อนคลีเวจ (Precleavage) ถึงระยะก่อนออกจากไข่ (Prehatch) และสิ้นสุดที่ระยะซูเอีย และการศึกษาของ Ronquillo et al., (1998) ได้แบ่งระยะการแบ่งเซลล์ไข่ปูทะเล (S. oceanic) ตามค่าความสัมพันธ์กับการพัฒนาของเซลล์ตามช่วงเวลา ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ทั้งหมด 25 ระยะ ซึ่งมีความละเอียดมากจึงไม่สามารถนำมาติดตามการพัฒนาของไข่ปูทะเลได้ในด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพราะจะต้องใช้เวลาในการติดตามที่ละเอียดมากแต่สามารถบอกระยะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไข่ได้ดี อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งระยะการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลเพิ่มขึ้น 1 ระยะ คือระยะการสร้างคาราเปสและปล้องท้อง (Formation of Carapace and Abdomen stages) หรือคล้ายกับระยะ thoracico - abdominal (Ates et al., 2011) ซึ่งเป็นระยะที่เซลล์ไข่ปูจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองมาเป็นสีน้ำตาลเข้ม จึงมีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงในโรงเพาะฟักสัตว์น้ำเพราะระยะนี้สามารถบอกได้ว่าหลังจากที่เลี้ยงเซลล์ไข่ปูทะเลในตู้ทดลองสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าว่าเซลล์ไข่ปูมีการเปลี่ยนสี ซึ่งแสดงถึงการพัฒนาของเซลล์ว่ายังมีชีวิตอยู่หรือจะฟ่อและเน่าเสียเพื่อที่จะเลี้ยงต่อไปหรือหยุดเลี้ยงโดยเปรียบเทียบกับสัดส่วนปริมาณไข่ทั้งหมดที่เลี้ยง (ภาพที่ 11) เพื่อไม่ให้เกิดการเสีย

เวลาในช่วงเวลาการเพาะลูกปูทะเล และระยะการสร้างคาราเปสและปล้องท้องเป็นระยะที่เชื่อมต่อระหว่างระยะการเต้นของหัวใจซึ่งเป็นระยะที่มีความสำคัญในการคัดเลือกลูกพันธุ์ได้เพราะอัตราการเต้นของหัวใจของไข่ที่ไม่ค่อยแข็งแรงจะมีอัตราการเต้นที่น้อยกว่าไข่ที่แข็งแรงจึงน่าจะสามารถนำมาเป็นหลักการหรือประยุกต์พัฒนาในการคัดเลือกลูกพันธุ์ปูได้

อุณหภูมิน้ำและความเค็ม

การพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลจะได้รับอิทธิพลจากค่าระดับอุณหภูมิน้ำและความเค็มของน้ำค่อนข้างมาก โดยเฉพาะที่ระยะซูเอียและระยะแมกาโลปาจะพบการเปลี่ยนแปลงของอัตราการรอดที่สอดคล้องกับค่าอุณหภูมิและความเค็ม ซึ่งที่ระดับอุณหภูมิที่สูงตั้งแต่ 27, 29 และ 31 องศาเซลเซียลและความเค็มที่ระดับ 27, 29 และ 31 พีพีที ในชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 พบเปอร์เซ็นต์การรอดลดลงอย่างเป็นสัดส่วนของไข่ปูในระยะซูเอียและแมกะโลปา เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับค่าอุณหภูมิน้ำและความเค็มในเขตพื้นที่ในอำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรีซึ่งเป็นแหล่งที่พบว่ามีความชุกชุมแพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มปูทะเลตั้งแต่ระยะแมกาโลปาจนถึงระยะลูกปูวัยอ่อน เพราะคุณภาพน้ำทะเลบริเวณนี้จะได้รับอิทธิพลจากแม่น้ำเวฬุทำให้มีความเค็มอยู่ในช่วง 20 - 30 พีพีทีและอุณหภูมิน้ำพบอยู่ในช่วง 23 - 30 องศาเซลเซียล ซึ่งอาจจะเป็นปัจจัยหลักเมื่อแม่ปูทะเลปล่อยไข่นอกชายฝั่งแล้วลูกปูในระยะซูเอียและแมกาโลปาเคลื่อนย้ายมาตามกระแสน้ำมายังระบบนิเวศที่เหมาะสมจึงทำให้ลูกปูในระยะซูเอียและแมกาโลปาสามารถมีอัตราการรอดที่สูงขึ้น (Hill et al., 1982; Hill, 1994; Baylon et al., 2001)



ภาพที่ 11 ความแตกต่างของเม็ดสีที่ปรากฏในระยะคลีเวจ (สีเหลืองค่อนข้างชัด) และระยะการสร้างคาราเปส และปล้องท้อง (สีน้ำตาลเข้มมากจนถึงสีโทนดำ) เพื่อใช้เป็นวิธีสังเกตอย่างง่ายด้วยตาเปล่าในการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเล สามารถนำมาอธิบายให้เกษตรกรสามารถสังเกตได้ง่ายในกระบวนการเพาะลูกปูทะเล เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในโรงเพาะฟัก

และสอดคล้องกับการศึกษาในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาของ Nurdiani and Zeng, (2007) พบว่า ผลของอุณหภูมิน้ำที่ 25 องศาเซลเซียล และความเค็มต่ำที่ระดับ 15 - 20 พีพีที จะทำให้ลูกปูในระยะซูเอียไม่สามารถพัฒนาต่อไปเป็นลูกปูวัยอ่อนได้ ในขณะที่ระดับอุณหภูมิของน้ำที่ 25 องศาเซลเซียลและความเค็มที่ระดับ 30 พีพีที จะสามารถทำให้ลูกปูในระระแมกาโลปาสามารถพัฒนาเป็นลูกปูวัยอ่อนได้ดี และจากการศึกษาของ Hamasaki et al., (2003) พบว่า การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่มีผลต่อการฟักไข่ การเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปูทะเล ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ระดับอุณหภูมิที่ 17, 20, 23, 26, 29, 32 และ 35 องศาเซลเซียส อัตราการรอดของไข่ที่สามารถพัฒนามาเป็นระยะ first crabs อยู่ที่อุณหภูมิ 23 - 26, 29 - 32 องศาเซลเซียส แต่อัตราการรอดที่ดีที่สุดจะอยู่ที่ระดับอุณหภูมิที่ 29 องศาเซลเซียสและสอดคล้องกับการศึกษาของ Zeng and Li (1992) พบอัตราการรอดที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียสเช่นกัน ในขณะที่ Chen and Cheng (1985) พบว่าการพัฒนาของปูทะเลวัยอ่อนจากอิทธิพลของอุณหภูมิที่ 22, 26 และ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่มีความเหมาะสมที่สามารถทำให้มีอัตราการรอดมากที่สุดคือ 26 และ 30 องศาเซลเซียส และ Zeng and li (1992) ได้ทดสอบอัตราการรอดของลูกปูวัยอ่อนที่ระดับอุณหภูมิตั้งแต่ 5 - 30 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมกับลูกปูในระยะซูเอียอยู่ที่ 25 - 30 องศาเซลเซียส ดังนั้นแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมที่จะทำให้ลูกปูระยะวัยอ่อนมีอัตราการรอดมากที่สุดควรอยู่ที่ 25 - 30 องศาเซลเซียส จากการศึกษาของ Suprayudi et al., (2002) ได้ทำการศึกษาเลี้ยงปู

ในระยะซูเอียและแมกาโลปาของปูทะเลที่ระดับความเค็ม 33 พีพีทีกับอุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับ ความเค็มที่ 21 พีพีที กับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งระยะการลอกคราบของปูในระยะซูเอียอยู่ที่ 2 - 3 วัน และแมกาโลปาจะอยู่ที่ 7 - 8 วัน ตามลำดับและจากการศึกษาของ Baylon et al., (2001) ได้ทำการศึกษาปูทะเลในระยะซูเอียจนถึงระยะแมกาโลปาที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มที่ 17 - 32 พีพีที พบว่า อัตราการรอดที่ดีที่สุดจะอยู่ที่ระดับความเค็มที่ 32 พีพีที และในช่วงระหว่างการเลี้ยงความเค็มไม่มีผลต่อการพัฒนาของลูกปูในระยะซูเอีย ดังนั้นความเค็มที่เหมาะสมในการเลี้ยงลูกปูทะเลจึงมีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงลูกปูที่จะทำให้มีอัตราการรอดมากที่สุด

สำหรับการศึกษาครั้งนี้พบว่า ระยะเวลาจำนวนวันที่เซลล์ไข่ปูทะเลมีการพัฒนาที่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง ชุดการทดลองที่ 1 เป็นเวลา 10 ± 2 วัน ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2, 3, 4 จะใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 13 ± 2, 15 ± 3 และ 17 ± 3 วัน ตามลำดับ ซึ่งการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลที่ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการจะได้ผลการทดลองที่แตกต่างกันนั้นนอกเหนือจากอิทธิพลของปัจจัยของอุณหภูมิและความเค็มของน้ำแล้ว ระยะของไข่ปูทะเลที่จับมาได้จากธรรมชาติจะมีระยะที่แตกต่างกัน โดยสังเกตได้จากสีของไข่ปูทะเล เช่น สีเหลือง ก็จะเป็นไข่ที่อยู่ในระยะคลีเวจก็อาจจะใช้เวลาในการฟักนานขึ้น ในขณะที่ไข่ปูทะเลที่อยู่ในระยะที่ 4 (การสร้างคาราเปสและปล้องท้อง) หรือที่เรียกว่าปูไข่แก่ การนำมาศึกษาในห้องทดลองก็จะใช้เวลาในการพัฒนาของไข่ให้เข้าสู่ระยะต่าง ๆ ก็จะเร็วขึ้น จึงทำให้มีความแปรปรวนของจำนวนวันในการฟักของไข่ปูทะเล อย่างไรก็ตามในจำนวนไข่ปูหนึ่งตัวจะมีจำนวนประมาณ 1,000,000 - 3,000,000 ฟอง (บรรจงและคณะ 2541) ตามขนาดของปูเพศเมีย ดังนั้นในเซลล์ไข่ปูทะเลหนึ่งตัวก็จะสามารถพบการพัฒนาของไข่ปูทะเลตั้งแต่ระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 4 ได้ แต่โดยส่วนใหญ่แล้วเซลล์ไข่ปูทะเลจะอยู่ในระยะเดียวกันประมาณ 80% ของไข่ทั้งหมด

การพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลจะมีความเกี่ยวข้องและสัมพันธ์กับอุณหภูมิน้ำและความเค็มซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความแปรปรวนในแนวเขตชายฝั่งซึ่งเป็นแหล่งอนุบาลลูกปูตามธรรมชาติ ซึ่งได้สอดคล้องกับการศึกษาวิจัยในการอนุบาลไข่ปูในระยะต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการที่ได้ออกแบบการทดลองความแตกต่างของระดับอุณหภูมิน้ำและความเค็มในช่วงกว้าง จึงสามารถพบอัตราการรอดของลูกปูทะเลในระยะต่าง ๆ ที่ได้รับผลจากอุณหภูมิน้ำและความเค็มที่หลายระดับ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเซลล์ไข่ปูทะเลในระยะคลีเวจจนถึงระยะการสร้างคาราเปสและปล้องท้องนั้นการพัฒนาของเซลล์ไข่ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับอุณหภูมิน้ำตั้งแต่ 25 - 31องศาเซลเซียส และความเค็มที่ระดับ 25 - 31 พีพีที แต่เมื่อไข่เริ่มพัฒนาเข้าสู่ในระยะการเต้นของหัวใจพบว่าที่ระดับอุณหภูมิน้ำที่ 25 องศาเซลเซียล และความเค็มที่ระดับ 25 พีพีที พบเปอร์เซ็นต์การรอดที่สูงสุด จึงมีแนวโน้มที่จะสรุปได้ว่าการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลจะเหมาะสมที่อุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียล) และใช้เวลาในการพัฒนาน้อยที่สุดคือ 10 ± 1 วัน และสอดคล้องกับ Nurdiani and Zeng, (2007) ที่พบว่าที่ระดับอุณหภูมิของน้ำที่ 25 องศาเซลเซียลและความเค็มที่ระดับ 35 พีพีที พบเปอเซ็นต์การรอดที่สูงสุด เพราะอุณหภูมิของน้ำจะมีผลต่อกระบวนการแมแทบอลิซึมซึ่งที่ระดับอุณหภูมิที่สูงจึงทำให้ระยะซูเอียเข้าสู่ระยะแมกะโลปาไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ และระยะของการพัฒนาลูกปูตั้งแต่ระยะซูเอียและแมกาโลปาจะไม่ชอบความเค็มต่ำตั้งแต่ 15 - 20 พีพีที ซึ่งไม่สามารถอยู่รอดได้ (Nurdiani and Zeng, 2007) ดังนั้นการพัฒนาของเซลล์ไข่ปูทะเลควรจะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำที่ 25 องศาเซลเซียลจะทำให้เซลล์ไข่ปูพัฒนาได้ดีและสามารถเพิ่มความเค็มให้สูงขึ้นได้เพื่อให้ระยะซูเอียและแมกะโลปาสามารถลอกคราบได้ดี (Nurdiani and Zeng, 2007).

ปูทะเลเป็นทรัพยากรที่มีความสำคัญ เป็นสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ และมีราคาที่สูงขึ้นเรื่อย ๆ ตามสภาวะการขาดแคลนจากการทำประมงที่มากเกินไป ปูทะเลจึงเป็นทรัพยากรสัตว์น้ำที่มีความสำคัญต่ออาชีพชาวประมงเป็นอย่างมาก การวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นการค้นหาองค์ความรู้ที่จะพัฒนาและเป็นแนวทางเพื่อนำไปต่อยอดในการพัฒนาในด้านการเพาะเลี้ยงปูทะเลในเชิงพานิชย์ในลำดับต่อไป

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การเพาะเลี้ยงลูกปูทะเลควรทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิน้ำที่ 25 องศาเซลเซียล และไม่ควรเกิน 29 องศาเซลเซียล และระดับความเค็มที่ 25 พีพีที เพราะใช้เวลาสั้นที่สุดในการพัฒนาของลูกปูในระยะต่าง ๆ และมีเปอร์เซ็นต์การรอดได้ดีที่สุด

2. สามารถนำมาพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงลูกปูทะเลแบบพัฒนาเพื่อให้มีอัตราการรอดที่สูงขึ้นต่อไปได้เพื่อให้ได้ลูกพันธุ์ปูมาเลี้ยงในระบบฟาร์มหรือมาเลี้ยงแบบธรรมชาติในนากุ้งร้างเพื่อให้ได้ขนาดของปูทะเลที่ตลาดต้องการ (marketable size) ได้และเป็นการเลี้ยงแบบต้นทุนต่ำ

คำขอบคุณ

งานวิจัยชิ้นนี้ได้มีผู้เข้ามามีส่วนร่วมในหลายภาคส่วน จึงขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนร่วมที่ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีและมีความสมบูรณ์มากที่สุด ขอขอบคุณลุงกอง โกยชัย ปราชญ์ชาวบ้านที่ให้ข้อมูลในการเก็บตัวอย่างแม่ปูทะเล และขอบคุณ ชณภัทร์ฟาร์ม ที่สนับสนุนสถานที่ในการเพาะเลี้ยง และเจ้าหน้าที่ของฟาร์มที่ช่วยในการดำเนินการงานเพาะเลี้ยงและเงินทุนบางส่วนในการทำวิจัย และขอบคุณศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี และห้องปฏิบัติการภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ในการสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

บรรณานุกรม

ธิดารัตน์ คงชัย สมชาย วิบุญพันธ์ อุทิศ โชติธรรมโม และ สุภาพร ชมภูวรณ์ (2554). ชีววิทยาบางประการของปูทะเลชนิด *Scylla serrata* (Forskal, 1755) บริเวณอ่าวนครศรีธรรมราช. เอกสารวิชาการฉบับที่ 19/2554 สำนักวิจัยและพัฒนาประมงทะเล. กรมประมง.กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 20 หน้า.

ศรีประภา โฮ่ลิ่ม (2551). การศึกษาเบื้องต้นเกียวกับประสิทธิภาพการจับปูทะเลของเครื่องมือลอบปูแบบพับได้ กรณีศึกษา : อ่าวทุ่งคา - สวี จังหวัดชุมพร ปัญหาพิเศษ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

สนธยา กูลกัลยา อุมารินทร์ มัจฉาเกื้อ และ ทวนทอง จุฑาเกตุ (2560). สภาวะผลจับและการวิเคราะห์แนวโน้มการประมงปูทะเลในอ่าวไทย. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 22 (1): 240-252. (มกราคม - เมษายน).

สัมพันธ์ ทองหนูนุ้ย, อำนวย วัฒนกรสิริ, ทวีเดช ไชยนาพงษ์, และสิทธิพัฒน์ แผ้วฉ่ำ. (2560). การวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วมของชุมชนในการพัฒนารูปแบบการฟื้นฟูและการอนุรักษ์ทรัพยากรประมง : กรณีศึกษาทรัพยากรปูทะเล เขตอำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี. วารสารทักษิน ฉบับที่ 20(1): 18-28. (เดือนมกราคม-เดือนมิถุนายน).

อำนวย จรด้วง. (2551). การจำแนกชนิดของปูทะเลในสกุล Scylla ด้วยการวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอเพื่อการเพาะเลี้ยงและการ
จัดการทรัพยากรที่ยั่งยืน. กรุงเทพมหานคร. รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

Ates, M.C.D., Quinitio, G., Quinitio, E.T. and Sanares, R. (2011). Comparative study on the embryonic development of three mud crabs *Scylla* spp. Aquaculture Research. 1-11.

Baylon, J. C. and A.N. Failaman (1998a). Broodstock management and some larval rearing requirement in mud crab *Scylla oceanica* in the Phillippines. The Fifth Asian Fisheries Forum International Conference on Fisheries and Food Security Beyond the Year 2000. November 11-14, 1998 Lotus Hotel Pang Suan Kaew, Chiang Mai, Thailand. p. 305.

Baylon, J. and A.N. Failaman (1998b). Salinity tolerance of the mud crab *Scylla serrata* (Forskal) Zoea. International Forum on the culture of Portunid crabs 1-4 December 1998 Boracay, Philippines p. 22.

Baylon, J.C., Failanan, A.N. and Vegano, E.L. (2001). Effect of salinity on survival and metamorphosis from zoea to megalopa of the mud crab *Scylla serrata* Forskal (Crustacea : Portunidae). Asian Fisheries Science. 14: 143-152.

Blackshaw, A.W., (1998). The larval culture of *Scylla serrata :* the maintenance of hygiene and concepts of experimental design. International Forum on the culture of Portunid crabs 1-4 December 1998 Boracay, Philippines pp.33-34.

Brick, R.W., (1974). Effects of water quality, antibiotics, phytoplankton and food on survival and development of larvae of *Scylla serrata* (Crustacea: Portunidae). Aquaculture. (3):231-244.

Chaoshu, Z., (1998). Effects of diet density on feeding rates of larvae mud crab *Scylla* sp. from hatching through metamorphosis. International Forum on the culture of Portunid crabs 1-4 December 1998 Boracay, Philippines p.27.

Chen, H.C. and Cheng, J.H. (1985). Studies on the larval rearing of serrate crab, *Scylla serrata :* Combined effects of salinity and temperature on hatching, survival and growth of zoea. Journal of Fish Society Taiwan. 12: 70-77. (English abstract).

Hamasaki, K., Suprayudi, M.G. and Takeuchi, T. (2003). Mass mortality during metamorphosis to megalops in the seed production of mud crab *Scylla serrata* (Crustacean, Decapoda, Portunidae). Fish Science. (68): 1226-1232.

Hill, B.J. (1994). Offshore spawning by the Portunid crab *Scylla serrata* (Crustacea, Decapoda). Marine Biology. 120: 379-384.

Hill, B.J., Williams, M.J. and Dutton, P. (1982). Distribution of juveniles, sub - adult and adult *Scylla serrata* (Crustacea : Portunidae) on Tidal flats in Australia. Marine Biology. (69): 117:120.

Ikhwanuddin, M., Azmie, G., Juariah, H.M., Zakaria, M.Z. (2011). Biolgical information and population features of mud crab, genus Scylla from mangrove areas of Sarawak, Malaysia. Fisheries Research. 108: 299-306.

Keenan, C.P. (1999). Aquaculture of mud crab, genus *Scylla* - part, present, future. In Keenan, C.P., Blackshaw, A. (Ed.), Mud crab Aquaculture and Biology. ACIAR Proceeding, vol. 78. ACIAR, Camberra, Australia, 9-13 pp.

Nurdiani, R. and Zeng, C. (2007). Effects of temperature and salinity on the survival and development of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskal), larvae. Aquaculture Research. 38: 1529-1538.

Ronquillo, J.D., Pura, Z.V. , Traifalgar, R.M. (1998). Seedling production and pond culture of hatchery - produced juveniles of the mud crab, *Scylla oceanic* Dana 1852. Proceeding of the fourth International crustacean congress 1998, Amsterdum, The Natherland, July 20-24 1998, V. I.

Ruscoe, I.M., William, G.R. and Shelley, C.C. (2004). Limiting the use of rotifers to the first zoeal stage in mud crab (*Scylla serrata* Forskal) larval rearing. Aquaculture. 213: 517-527.

Samuel, N.J. and Soundarapandian, P. (2010). Embryology of Commercially Important Portunid Crab *Scylla serrata* (Forskal). Asian Journal Experimental Biological Sciences. 1(1): 178-82.

Sheen, S.S. and Wu, S.W. (1999). The effects of dietary lipid level on the growth response of juvenile mud crab *Scylla serrata.* Aquaculture. 175: 143-153.

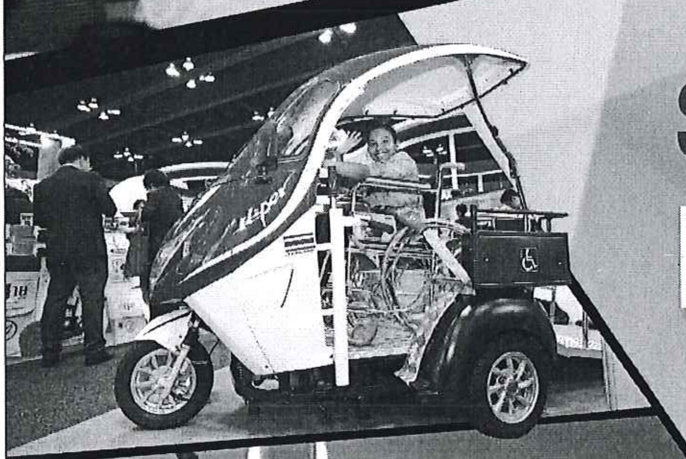
Suprayudi, M.A., Takeuchi, T., Hamasaki, K. and Hirokawa, J., (2002). The effect of n-3HUFA content in rotifers onthe development and survival of mud crab. *Scylla serrata,* larvae. Suisanzoshoku 50, 205-212.

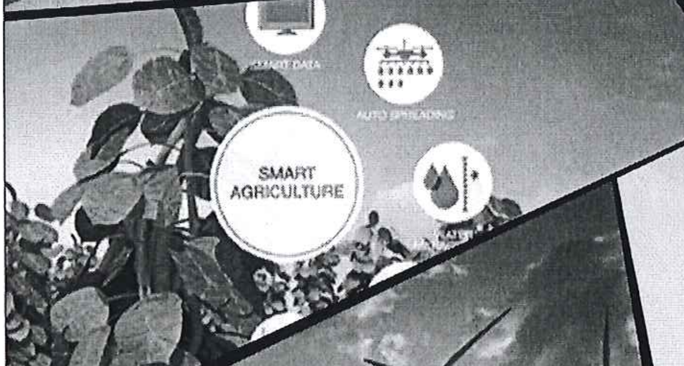
Trino, A.T., Millamena, O.M. and Keenan, C. (1999). Commercial evaluation of monosex pond culture of the mud crab *Scylla* species at three stocking densities in the Philippines. Aquaculture. 174: 109-118.

Zeng, C. and Li, S. (1992). Effects of temperature on survival and development of the larvae of *Scylla serrata.* Journal of Fish China. (16): 213- 221 (in Chinese with English abstract).

Thailand Research Expo: Symposium 2018

PROCEEDINGS

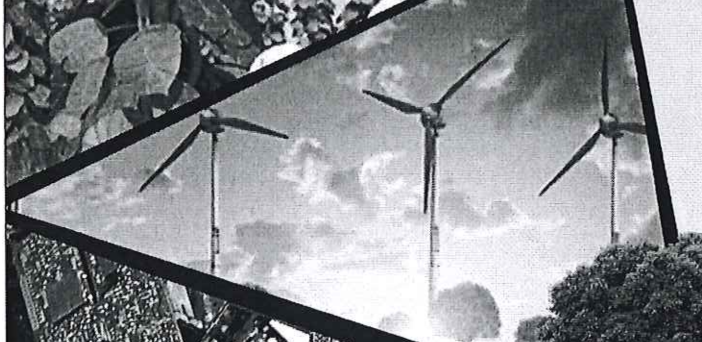




ระหว่างงาน

"มหกรรมงานวิจัยแห่งชาติ 2561
(Thailand Research Expo 2018)"
ในระหว่างวันที่ 9 - 13 สิงหาคม 2561

ณ โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์ และบางกอกคอนเวนชัน
เซ็นเตอร์ เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพฯ



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
National Research Council of Thailand (NRCT)
ISBN 978-974-326-659-1