



รายงานการวิจัย

การพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับ
ปูแสม (*Episesarma singaporense*) ระยะวัยรุ่น

Development of formulated diets for juvenile stage of
sesarmid crab (*Episesarma singaporense*)

ชาญยุทธ สูดทองคง Chanyut Sudtongkong
วัฒนา วัฒนกุล Wattana Wattanakul

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2560

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่อง การพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูแสม (*Episesarma singaporense*) ระยะวัยรุ่นได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย พ.ศ. 2560 และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่สนับสนุนปัจจัยพื้นฐานการวิจัย เช่น โรงเรือน ครุภัณฑ์วิทยาศาสตร์ และอุปกรณ์อื่นๆ ทำให้การดำเนินการวิจัยในครั้งนี้บรรลุตามวัตถุประสงค์ และใคร่ขอขอบคุณที่วิจัยห้องปฏิบัติการวิจัยปูน้ำเค็ม (Marine Crab Research Laboratory) ประกอบด้วยนายมุฮัมหมัด จิตรณรงค์ และ น.ส.ศุภรัตน์ คงโอ ที่ช่วยเก็บข้อมูลการวิจัยในครั้งนี้

ชาญยุทธ สุดทองคง
วัฒนา วัฒนกุล
สิงหาคม 2561



การพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูแสม (*Episesarma singaporense*) ระยะวัยรุ้น

ชาญยุทธ สุตทองคง¹ และวัฒนา วัฒนกุล²

บทคัดย่อ

การพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูแสม (*Episesarma singaporense*) ระยะวัยรุ้นได้ดำเนินการด้วยการเลี้ยงปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 30% 35% 40% 45% 50% และ 55% ซึ่งอาหารแต่ละสูตรใช้เลี้ยงปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้นที่เลี้ยงแยกเดี่ยวในภาชนะพลาสติก ผลการศึกษาพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน แต่การเติบโตของปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้นที่เลี้ยงอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 45% มีแนวโน้มการเติบโตดีกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปสูตรอื่นๆ เมื่อพิจารณาเกี่ยวกับขนาดของอาหาร พบปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดใหญ่ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มม.) มีอัตราการรอดตายสูงกว่าปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดเล็ก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 มม. และ 1.0 มม.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนการเติบโตของปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้นที่เลี้ยงอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยสรุปอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0-2.8 มม. สามารถใช้เป็นอาหารที่เหมาะสมกับระยะวัยรุ้นตอนต้นของปูแสมชนิดนี้

คำสำคัญ: ปูแสม *Episesarma singaporense* ระดับโปรตีน อาหารสำเร็จรูป

¹ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.สิเกา จ.ตรัง

²ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.สิเกา จ.ตรัง

Development of formulated diets for juvenile stages of sesarmid crab (*Episesarma singaporense*)

Chanyut Sudtongkong¹ and Wattana Wattanakul²

Abstract

Development of formulated diets for juvenile stages of sesarmid crab (*Episesarma singaporense*) was conducted by fed formulated diets, which contained various protein levels, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% and 55%, to the early juvenile stage (Crab 3) of this species. Each diet was assigned to those sesarmid juveniles that were individually reared in plastic containers. The results revealed that there were significant differences in the survival rate of the juvenile crab that fed with different protein level ($P < 0.05$). But, the growth of the juvenile crab was not significantly affected by the different dietary protein level ($P > 0.05$). However, the better trend of growth was found in the juvenile crab that fed with 45% protein diet than other formula diets. When considering to the particle size of diets, the survival rate of juvenile crab that fed the large diets (2.8 mm of diameter) were significantly higher than those crabs that fed small diets; 0.8 mm and 1.0 mm ($P < 0.05$). The growth of the juvenile crab was not significantly influenced by the different dietary particle size ($P > 0.05$). In summary, the formulated diet with 45% protein and 2.0-2.8 mm of diameter can be used as a suitable diet to the early juvenile of this sesarmid species.

Keywords: Sesarmid crab, *Episesarma singaporense*, Protein level, Formulated diet

¹ Department of Marine Science, Faculty of Science and Fisheries Technology. Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang.

² Department of Fisheries Technology, Faculty of Science and Fisheries Technology. Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญภาพ.....	ช
บทนำ.....	1
วิธีดำเนินการวิจัย.....	4
ผลการวิจัย.....	23
วิจารณ์ผลการวิจัย.....	30
สรุปผลการวิจัย.....	35
เอกสารอ้างอิง.....	37



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 อาหารและปริมาณอาหารสำหรับการอนุบาลตัวอ่อนปูแสมและปูแสม ระยะวัยรุ่น	9
ตารางที่ 2 วัตถุดิบของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง.....	11
ตารางที่ 3 ค่าโภชนาการของอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน.....	13
ตารางที่ 4 องค์ประกอบกรดอะมิโน (g/100 g of fresh weight) ของอาหาร สำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน.....	14
ตารางที่ 5 อัตราการรอดตายของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้น ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน.....	23
ตารางที่ 6 การเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มี โปรตีนต่างกัน.....	24
ตารางที่ 7 การเพิ่มน้ำหนักของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยง ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน.....	24
ตารางที่ 8 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่น ตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน.....	25
ตารางที่ 9 ระยะเวลาพัฒนาการอัตราการรอดตายของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน.....	25
ตารางที่ 10 อัตราการรอดตายของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่ เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน.....	26
ตารางที่ 11 การเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มี ขนาดต่างกัน.....	26
ตารางที่ 12 การเพิ่มน้ำหนักของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่ เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน.....	27
ตารางที่ 13 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่น ตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน.....	27
ตารางที่ 14 ระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้น ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน.....	28
ตารางที่ 15 องค์ประกอบกรดอะมิโน (g/100 g of fresh weight) ของเนื้อปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน ต่างกัน.....	29

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 16 ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำเร็จรูปสำหรับปศุชนิดต่างๆ ระยะวัยรุ่น.....	32
ตารางที่ 17 ขนาดของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้อนุบาลปศุชนิดต่างๆ ระยะวัยรุ่น.....	34



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ปูแสม <i>Episesarma singaporense</i>	2
ภาพที่ 2 ปูแสมที่แปรรูปเป็นปูเค็มเพื่อการบริโภค.....	2
ภาพที่ 3 การเตรียมน้ำทะเลเพื่ออนุบาลตัวอ่อนปูแสม.....	5
ภาพที่ 4 ระบบกรองน้ำสำหรับการอนุบาลตัวอ่อนปูแสม.....	6
ภาพที่ 5 การเพาะ <i>Chlorella</i> sp. และการเพาะไรติเฟอร์.....	7
ภาพที่ 6 การเพาะอาร์ทีเมียสำหรับเป็นอาหารของตัวอ่อนปูแสม.....	8
ภาพที่ 7 การเลี้ยงแม่พันธุ์ปูแสม <i>E. singaporense</i>	8
ภาพที่ 8 การเพาะพันธุ์ตัวอ่อนปูแสม <i>E. singaporense</i>	10
ภาพที่ 9 ปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3).....	10
ภาพที่ 10 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง.....	12
ภาพที่ 11 การเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง.....	15
ภาพที่ 12 การศึกษาอัตราการรอดตาย การเติบโตและระยะเวลาพัฒนาการของ ปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่ เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน.....	17
ภาพที่ 13 การเตรียมอาหารสำเร็จรูปขนาดต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง.....	19
ภาพที่ 14 การศึกษาอัตราการรอดตาย การเติบโตและระยะเวลาพัฒนาการของ ปูแสม <i>E. singaporense</i> ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่ เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน.....	21

บทนำ

ปูแสมวงศ์ Sesarmidae เป็นสัตว์หน้าดินชนิดเด่นที่พบอาศัยในป่าชายเลนของเขตอินโดแปซิฟิก (Tan and Ng, 1994; Ashton et al., 2002; Thimdee et al. 2004; Kent and McGuiness 2008) ปูแสมมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศป่าชายเลน (Lee, 1998; Thongtham and Kristensen 2005) โดยทั่วไปปูแสมกินเศษใบไม้รวมทั้งอินทรีย์วัตถุที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนตลอดจนสาหร่ายและสัตว์ขนาดเล็กที่อยู่ตามผิวดินในป่าชายเลนเป็นอาหาร (Bouillon et al., 2002; Thongtham and Kristensen, 2005; Thongtham et al., 2008) หลังจากนั้นมูลของปูแสมและเศษใบไม้เหล่านั้นถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียและราต่อมาแบคทีเรียถูกกินโดยผู้บริโภคนั้นสูงกว่าเกิดการถ่ายทอดพลังงานเป็นสายใยอาหารในป่าชายเลน (Shokita, 2004; Kristensen, 2008; Kristensen et al., 2010) นอกจากนี้ปูแสมเป็นอาหารของปลาเศรษฐกิจชนิดต่างๆ ที่อาศัยในป่าชายเลน เช่น ปลากระดังงอแดง *Epinephelus coioides* ปลากระพงแดง *Lutjanus argentimaculatus* (Sheaves and Molony, 2000)

ปูแสม *Episesarma singaporense* (ภาพที่ 1) เป็นปูแสมชนิดหนึ่งในจำนวนห้าชนิดของปูแสมสกุล *Episesarma* ที่พบเป็นจำนวนมากและพบได้บ่อยสุดในคาบสมุทรมลายู (Lee et al., 2015) และเป็นผลผลิตทางการประมงที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากปูแสม *E. singaporense* และปูแสมชนิดอื่นๆ ของสกุล *Episesarma* ถูกจับเป็นปริมาณมากเพื่อเป็นอาหารของประชาชนที่อาศัยในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศจีน (Ng, 1998) สำหรับประเทศไทยพบปูแสม *E. singaporense* อาศัยในบริเวณป่าชายเลนทั้งฝั่งอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามัน (Naiyanetr, 2007) ปูแสมได้ถูกจับจากแหล่งอาศัยในธรรมชาติเพื่อมาแปรรูปเป็นปูเค็ม (Phithakpol et al., 1995; บรรจง, 2552) ปูเค็ม (ภาพที่ 2) ที่ผลิตจากปูแสมมีกลิ่นรสที่ดีจึงเป็นที่นิยมบริโภคสำหรับคนไทยทั่วไป (Sumpavapol, et al., 2010) แต่ปริมาณปูแสมที่จับในประเทศไทยเพื่อนำมาบริโภคมีไม่เพียงพอ จากการประมาณการบริโภคปูแสมของคนไทยเท่ากับ 18,000 ตันต่อปี แต่ผลผลิตปูแสมของประเทศไทยมีประมาณ 12,000 ตันต่อปี จึงต้องนำเข้าปูแสมจากต่างประเทศแต่ละปีไม่ต่ำกว่า 5,000 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณปีละ 82 ล้านบาท (บรรจง, 2552) ปัจจุบันแนวโน้มการขาดแคลนปูแสมสำหรับการบริโภคในประเทศไทยได้เพิ่มสูงขึ้น เมื่อพิจารณาจากปริมาณและมูลค่าการนำเข้าปูแสมจากประเทศเพื่อนบ้านเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับปีที่ผ่านมา ดังรายงานของด่านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดตราด กรมประมง แสดงข้อมูลการนำเข้าปูแสมจากประเทศกัมพูชาเท่ากับ 1,953.22 ตัน มีมูลค่า 97,682,000 บาท และพบการนำเข้าปูแสมเพิ่มขึ้นในปี พ.ศ.2558 เท่ากับ 2,511.44 ตัน คิดเป็นเงิน 112,391,000 บาท (ด่านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดตราด, 2559) ส่วนปูแสมมีการนำเข้าจากประเทศพม่ามีแนวโน้มสูงเช่นกัน แต่การนำเข้าปูแสมจากประเทศเพื่อนบ้านอาจไม่ปลอดภัยต่อการบริโภค ดังรายงานการพบการปนเปื้อนของตะกั่วและแคดเมียมคิดเป็นร้อยละ 90.3 และ 64.1 ของตัวอย่างปูเค็มที่ผลิตจากปูแสมและนำเข้าจากประเทศพม่าระหว่างปี 2551-2555 ซึ่งตะกั่วและแคดเมียมจัดเป็นโลหะหนักที่เป็นอันตรายในอาหารประเภทอันตรายทางเคมี (Chemical Hazard) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (เสาวลักษณ์ และอารยา, 2557)



ภาพที่ 1 ปูแสม *Episesarma singaporense*



ภาพที่ 2 ปูแสมที่แปรรูปเป็นปูเค็มเพื่อการบริโภค

แม้ว่าปูแสมชนิดนี้เป็นปูที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และมีแนวโน้มขาดแคลนไม่เพียงพอต่อการบริโภคของคนไทย แต่ยังคงขาดองค์ความรู้เกี่ยวกับการเพาะพันธุ์และผลิตปูแสมจากโรงเพาะฟัก เช่น การวิจัยเกี่ยวกับอาหารสำเร็จรูปที่เหมาะสมกับปูแสมระยะต่างๆ เป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงปูแสม อาหารสำเร็จรูปมีลักษณะที่เป็นจุดเด่นและแตกต่างจากอาหารมีชีวิต ได้แก่ องค์ประกอบและขนาดของอาหารสำเร็จรูปสามารถปรับให้ตรงกับความต้องการของสัตว์แต่ละชนิด และแต่ละช่วงอายุ (Southgate and Partridge, 1998) โดยทั่วไปอาหารสำเร็จรูปแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ อาหารสำเร็จรูปแบบ microencapsulated diets (MED) และอาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diets (MBD) นอกจากนี้พบอาหารสำเร็จรูปที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ในรูปแบบอื่นๆ เช่น micro-coated diets (MCD), flakes, granulated feeds และ liquid feeds (lipid walled capsules) (Fegan, 2004) อาหารสำเร็จรูปแบบ microencapsulated diet (MED) ประกอบด้วยองค์ประกอบของอาหารที่อยู่ภายในเมมเบรน (membrane) หรือผนังของแคปซูล (capsule wall) แม้ว่าการใช้อาหารสำเร็จรูปแบบ microencapsulated diet (MED) เหมาะกับใช้อุบาลปลาและหอยชนิดต่างๆ แต่การใช้อาหารแบบนี้ในการอนุบาลครัสเตเชียนอาจมีข้อจำกัด เนื่องจากครัสเตเชียนมีความสามารถในการย่อยอาหารชนิดนี้ต่ำ ข้อดีของผนังแคปซูลหรือเมมเบรนที่หุ้มอาหาร คือช่วยให้สามารถรักษาส่วนผสมอาหารในอาหารจนกว่าจะถูกกิน และยังช่วยคุณภาพน้ำของการเพาะเลี้ยงมีคุณภาพน้ำที่ดี (Holme et al., 2009) แต่ผนังแคปซูลหรือเมมเบรนที่แยกสารอาหารภายในออกจากน้ำ ไม่ให้ปลดปล่อยสารอาหารหรือรั่ว (leaching) ซึ่งสารอาหารที่รั่ว (leaching) ออกจากอาหารสำเร็จรูปมีความสำคัญในด้านการกระตุ้นการกินอาหาร

ของคริสต์เตเซียน ดังนั้นอาหารสำเร็จรูปแบบ microencapsulated diet (MED) อาจเป็นอาหารเม็ดที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกปลาและลูกหอยมากกว่าการอนุบาลคริสต์เตเซียน แต่ในทางกลับกันอาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diet (MBD) ได้มีการวิจัยอย่างแพร่หลายในการศึกษาอาหารของคริสต์เตเซียน และถูกใช้ในแง่เป็นอาหารทางเลือก อาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diet (MBD) ได้ถูกเตรียมโดยการผสมส่วนประกอบของอาหารต่างๆกับสารเหนียว (binder) เช่น alginate, agar, zein แล้วจึงนำส่วนผสมไปทำให้แห้งด้วยตู้อบ หลังจากนั้นจึงบดให้ละเอียดแล้วนำไปร่อนตะแกรงเพื่อให้ได้ขนาดอาหารในช่วงที่เหมาะสม (Knauer and Southgate, 1999) อาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diet (MBD) จึงมีราคาไม่แพง สะดวกในการผลิต สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ในระยะเวลาสั้นถึงระยะเวลาปานกลาง (Southgate and Partridge, 1998) และได้มีรายงานถึงความสำเร็จในการใช้อาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diet (MBD) (Genodepa et al., 2004b; Genodepa et al., 2006; Holme et al., 2006) แต่อย่างไรก็ตามอาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diet (MBD) จะไม่คงตัวในน้ำ จึงอาจเป็นปัญหาด้านคุณภาพน้ำ การเพิ่มของแบคทีเรีย และการลดลงของสารอาหารที่เกิดจากการรั่วไหล (leaching) ของสารอาหาร (Holme et al., 2009) ซึ่งในอดีตที่ผ่านมา นักวิจัยได้พยายามการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (Jones et al., 1993; Hamasaki et al., 2002; Holme et al., 2007; Holme et al., 2009) เช่น การพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับสัตว์กลุ่มคริสต์เตเซียน (Genodepa et al., 2004a; D'Abramo et al., 2006) ปลา (Langdon, 2003) และหอย (Knauer and Southgate, 1999) เป็นต้น โดยมีประเด็นวิจัยต่างๆ ได้แก่ ความต้องการพลังงาน (energetic requirements) และความต้องการสารอาหารที่สำคัญบางชนิด (major nutritional requirements) เช่น โปรตีน เนื่องจากโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนต่างๆ ที่เป็นสารอาหารที่จำเป็นที่สัตว์ต้องการเพื่อการเติบโต (Guillaume, 1997; Glencross, 2006) นอกจากนี้โปรตีนยังเป็นองค์ประกอบหลักและมีราคาแพงสุดขององค์ประกอบอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารจะแตกต่างกันขึ้นกับสัตว์แต่ละชนิด และระยะพัฒนาการ (Holme et al. 2009) และมีการวิจัยเกี่ยวกับระดับโปรตีนที่เหมาะสมกับการเลี้ยงปูระยะวัยรุ่นชนิดต่างๆ (Mu et al., 1998; Catacutan, 2002) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่ปรากฏรายงานการวิจัยเกี่ยวกับระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารของปูแสมวัยรุ่น

จากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น จึงได้ทำการวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกันและขนาดอาหารที่ต่างกัน และศึกษาองค์ประกอบชีวเคมีของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน เนื่องจากที่ผ่านมาผู้วิจัยได้รับการสนับสนุนให้ทำการวิจัยเรื่องระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำเร็จรูปสำหรับตัวอ่อนระยะต่างๆ ของปูแสม *E. singaporense* ซึ่งพบแนวโน้มการรอดตายสูงเมื่ออนุบาลตัวอ่อนปูแสมด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 55% แต่ยังไม่มีการทดลองเกี่ยวกับระดับโปรตีนและขนาดของอาหารสำเร็จรูปที่เหมาะสมสำหรับปูแสมระยะวัยรุ่น ดังนั้นการวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นในครั้งนี้จึงเป็นการวิจัยเพื่อมุ่งเป้าพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูแสม ซึ่งเป็นการวิจัยต่อยอดจากงานวิจัยที่ได้ทำมาเกี่ยวกับการใช้อาหารสำเร็จรูปทดแทนอาหารสดในการเลี้ยงปูแสมระยะต่างๆ โดยคาดว่าจะองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปให้เหมาะสมกับการเลี้ยงปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่น เพื่อนำไปสู่การพัฒนากระบวนการผลิตปูแสม เพื่อเพิ่มความมั่นคงทางอาหาร

ของประเทศไทยและทดแทนผลผลิตปูแสมที่จับจากธรรมชาติที่มีแนวโน้มขาดแคลนต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

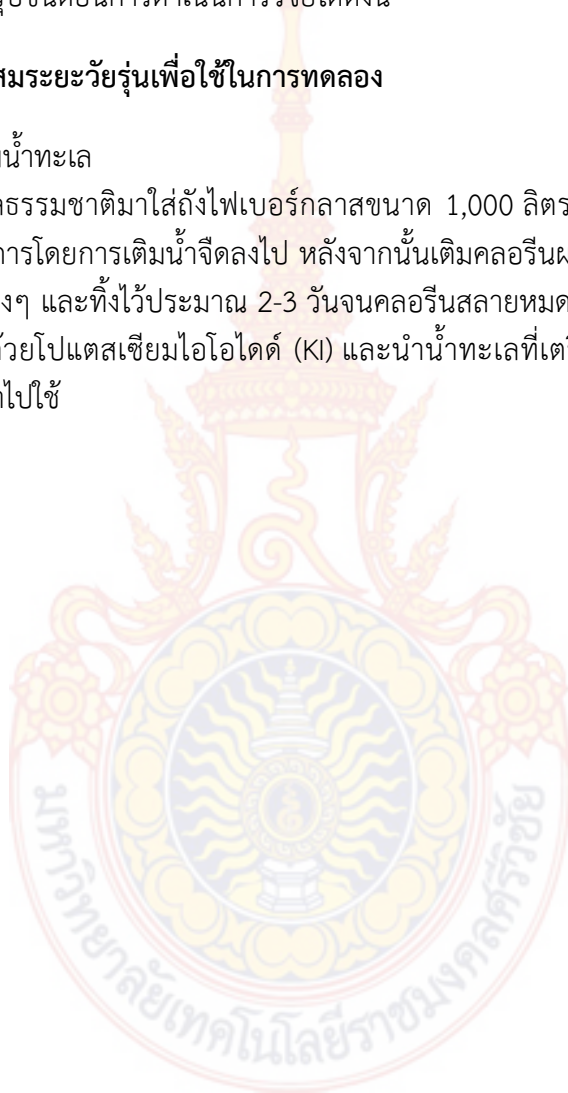
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นได้ดำเนินการที่หน่วยปฏิบัติการวิจัยปูน้ำเค็ม (Marine Crab Research Laboratory) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง ซึ่งสามารถสรุปขั้นตอนการดำเนินการวิจัยได้ดังนี้

1. การเตรียมปูแสมระยะวัยรุ่นเพื่อใช้ในการทดลอง

1.1 การเตรียมน้ำทะเล

นำน้ำทะเลธรรมชาติมาใส่ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร โดยปรับให้น้ำทะเลมีระดับความเค็มตามความต้องการโดยการเติมน้ำจืดลงไป หลังจากนั้นเติมคลอรีนผงในอัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำทะเล 1 ตัน ให้อากาศแรงๆ และทิ้งไว้ประมาณ 2-3 วันจนคลอรีนสลายหมด (ภาพที่ 3) แล้วจึงตรวจสอบการตกค้างของคลอรีนด้วยโปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI) และนำน้ำทะเลที่เตรียมไว้มาผ่านระบบกรองน้ำ (ภาพที่ 4) ทุกครั้งก่อนนำไปใช้





ภาพที่ 3 การเตรียมน้ำทะเลเพื่ออนุบาลตัวอ่อนปูแสม





ภาพที่ 4 ระบบกรองน้ำสำหรับการอนุบาลตัวอ่อนปูแสม

1.2 การเตรียมอาหารสำหรับการทดลองอนุบาลปูแสมวัยอ่อน

-การเพาะขยายสาหร่าย *Chlorella* sp. เพื่อเป็นอาหารโรติเฟอร์ โดยนำหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. จากหลอดแก้วมาขยายต่อในฟลาสก์ 1 ลิตร และจากฟลาสก์ 1 ลิตร มาขยายในโหลแก้ว ขนาด 10 ลิตร โดยใช้ น้ำทะเลที่เตรียมไว้ เติมนุ้ยเป็นอาหารของ *Chlorella* sp. คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 100 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน แคลเซียมซุบเปอร์ฟอสเฟต 15 กรัมต่อน้ำ 1 ตันและยูเรีย 5 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน นำโหลไปวางในที่ที่มีแสงสว่างพร้อมให้อากาศ เมื่อ *Chlorella* sp. ขยายจนมีสีเขียวเข้มแล้ว จึงนำไปขยายในถังพลาสติกขนาด 500 ลิตร (ภาพที่ 5) เพื่อเตรียมไว้เลี้ยงโรติเฟอร์ และเก็บหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. ไว้ เพื่อเตรียมไว้ขยายสำหรับเลี้ยงโรติเฟอร์ในโอกาสต่อไป

-การเพาะขยายโรติเฟอร์เพื่อเป็นอาหารปูแสมวัยอ่อน โดยเตรียมถังพลาสติกขนาด 500 ลิตรแล้วนำ *Chlorella* sp. มาใส่ประมาณ 60 ลิตร นำโรติเฟอร์มาใส่ 15 ลิตร ปรับความเค็มของน้ำทะเลให้ได้ 15-20 PSU. เพื่อให้เหมาะสมกับการเจริญของโรติเฟอร์และลดการเพิ่มจำนวนของ โคพีพอดเมื่อโรติเฟอร์มีความหนาแน่นเพียงพอ จึงทำการกรองด้วยสวิงเพื่อนำไปอนุบาลปูแสมวัยอ่อน โรติเฟอร์ส่วนหนึ่งต้องนำไปเลี้ยงในถังเพาะโรติเฟอร์เพื่อเตรียมไว้ใช้ในโอกาสต่อไป (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 การเพาะ *Chlorella* sp. และการเพาะโรติเฟอร์

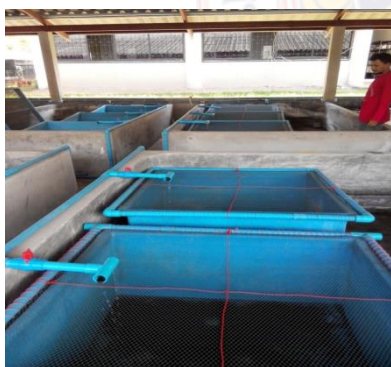
-การเพาะอาร์ทีเมียโดยนำไข่ของอาร์ทีเมียมาแช่คลอรีนไว้ประมาณ 5 นาที ล้างคลอรีนออกให้หมดแล้วนำไปเพาะในโหลขนาด 10 ลิตร โดยใช้มีดที่เตรียมไว้และให้อากาศแรงๆ เพื่อให้ไข่อาร์ทีเมียกระจายทั่วโหล ทิ้งไว้ประมาณ 24-48 ชั่วโมง จึงทำการรวบรวมตัวอ่อนอาร์ทีเมียไปใส่อนุบาลปูแสมวัยอ่อนการเก็บเกี่ยวอาร์ทีเมียทำโดยใช้ผ้าเทปสีดำปิดรอบโหลโดยเว้นข้างล่างไว้ประมาณ 1 นิ้ว ปิดอากาศเพื่อให้ตัวอาร์ทีเมียว่ายลงมาอยู่บริเวณก้นโหล จากนั้นใช้สายยางดูดเอาตัวอ่อนอาร์ทีเมียที่อยู่ข้างล่างไปอนุบาลลูกปูวัยอ่อน (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การเพาะอาร์ทีเมียสำหรับเป็นอาหารของตัวอ่อนปูแสม

1.3 การเลี้ยงแม่พันธุ์ปูแสม

ทำการรวบรวมแม่พันธุ์ปูแสมชนิด *E. singaporense* จากป่าชายเลนในจังหวัดตรัง แม่พันธุ์ที่รวบรวมได้จะถูกนำมาเลี้ยงที่โรงเพาะฟัก โดยทำแยกปูแสมที่เป็นแม่พันธุ์แต่ละตัวเลี้ยงในกล่องโฟมขนาด 30×50×30 เซนติเมตรที่มีน้ำมีทะเลบรรจุอยู่ 20 ลิตร (ภาพที่ 7) สำหรับความเค็มที่ใช้เลี้ยงแม่พันธุ์อยู่ที่ระดับ 25 PSU. ให้อาหารประเภทอาหารกุ้ง อาหารสด และอาหารเสริม และต้องทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน หลังจากนั้นเฝ้าสังเกตการวางไข่ของแม่ปู



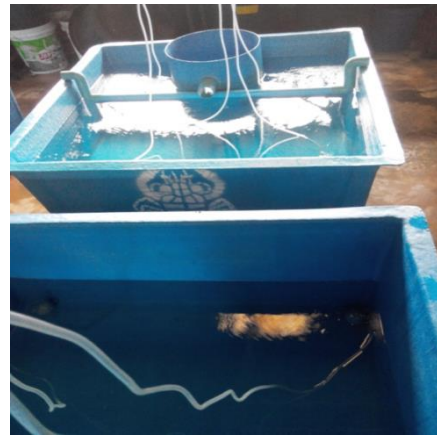
ภาพที่ 7 การเลี้ยงแม่พันธุ์ปูแสม *E. singaporense*

1.4 การอนุบาลตัวอ่อนและการเตรียมปุ๋ยผสมระยะวัยรุ่นเพื่อใช้ในการทดลอง

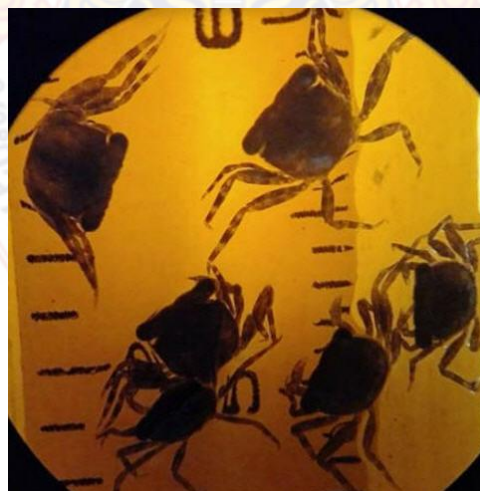
แม่ปุ๋ยผสมมักฟักไข่ในช่วงกลางคืนระหว่าง 2 ทุ่มถึงเที่ยงคืน เมื่อปุ๋ยผสมฟักไข่จึงคัดแยกตัวอ่อนปุ๋ยผสมแรกฟัก (ระยะ Zoea 1) โดยใช้สายยางดูดหรือใช้ภาชนะตักขึ้นมา ซึ่งการคัดแยกจะเลือกเอาเฉพาะลูกปูที่แข็งแรงคือตัวอ่อนที่ว่ายน้ำอยู่ที่ผิวน้ำ หลังจากนั้นจึงย้ายตัวอ่อนจากกล่องโฟมนำไปเลี้ยงอนุบาลในถังอนุบาล คือถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร (ภาพที่ 8) โดยอนุบาลตัวอ่อนระยะ Zoea 1 ที่ความหนาแน่น 80 ต่อลิตร ความเค็มที่ใช้เลี้ยงตัวอ่อนคือ 25 PSU. สำหรับการให้อาหารลูกปูผสมจากระยะ Zoea 1 ถึง Crab I ดังสรุปในตารางที่ 1 และเมื่อตัวอ่อนพัฒนาการสู่ระยะ Crab1 หลังจากนั้นจึงย้ายตัวอ่อนระยะดังกล่าวไปอนุบาลในบ่อคอนกรีตขนาด 3x4x1.5 เมตร และให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งทะเล เมื่ออนุบาลจนลูกปูผสมเติบโตเป็นปุ๋ยผสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะCrab 3) จึงทำการสุ่มปุ๋ยผสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะCrab 3) ไปใช้ในการทดลอง (ภาพที่ 9) นอกจากนี้ปุ๋ยผสมวัยรุ่นระยะ Crab 3 ประมาณ 10,000 ตัว ที่เหลือจากการเตรียมเพื่อการทดลองได้นำไปปล่อยกลับสู่แหล่งอาศัยในป่าชายเลน เพื่อฟื้นฟูประชากรปุ๋ยผสมในธรรมชาติ

ตารางที่ 1 อาหารและปริมาณอาหารสำหรับการอนุบาลตัวอ่อนปุ๋ยผสมและปุ๋ยผสมระยะวัยรุ่น

ระยะพัฒนาการ	อาหาร	ปริมาณอาหาร
Zoea I	Rotifer	10 rotifers crab ⁻¹
Zoea II	Newly hatched <i>Artemia</i> (17–18 h after hatching) and rotifer	2 <i>Artemia</i> crab ⁻¹ and 10 rotifers mL water ⁻¹
Zoea III	Newly hatched <i>Artemia</i> (20–24 h after hatching)	4 <i>Artemia</i> crab ⁻¹
Zoea VI	Adult <i>Artemia</i> (48 h after hatching)	6 <i>Artemia</i> crab ⁻¹
Megalopa	Adult <i>Artemia</i> (72 h after hatching)	8 <i>Artemia</i> crab ⁻¹
Crab I	Adult <i>Artemia</i> (1 week after hatching)	5 <i>Artemia</i> crab ⁻¹
Crab II	Shrimp feed	2–3.5% of weight crab ⁻¹



ภาพที่ 8 การเพาะพันธุ์ตัวอ่อนปูแสม *E. singaporense*



ภาพที่ 9 ปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ crab 3)

2. การเตรียมอาหารสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นอาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diet (MBD) มี 6 สูตรแต่ละสูตรมีระดับโปรตีนแตกต่างกันคือ 30%, 35%, 40%, 45%, 50% และ 55% สาเหตุที่เลือก ระดับโปรตีนในช่วงดังกล่าวเนื่องจากค้นคว้าพบว่าอาหารสำเร็จรูปที่ใช้อูบาลคริสเตเซียนระยะวัยรุ่นมักมี โปรตีนอยู่ในช่วง 30-55% (Mu *et al.* 1998; Unnikrishnan and Paulraj, 2010; Jin *et al.*, 2013) สำหรับสูตรอาหารที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ดัดแปลงจากสูตรอาหารที่ใช้ในงานวิจัยของ Jin *et al.* (2013) ที่ ศึกษาความต้องการโปรตีนของปู *Portunus trituberculatus* โดยมีองค์ประกอบของวัตถุดิบที่เป็น ส่วนผสมของอาหาร (ภาพที่ 10) ดังรายละเอียดในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 วัตถุดิบของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

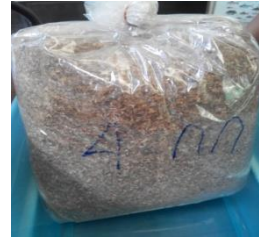
วัตถุดิบ	ระดับโปรตีนในอาหารที่ใช้ในการทดลอง					
	30%	35%	40%	45%	50%	55%
Fish meal	16.75	21.76	26.76	31.76	36.76	40.76
Shrimp meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Soybean meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Wheat gluten meal	12.09	14.92	17.77	20.61	23.46	27.12
Fish oil	2.56	2.33	2.11	1.88	1.66	1.43
Soybean oil	2.56	2.33	2.11	1.88	1.66	1.43
Dextrin	36.24	28.08	19.89	11.74	3.54	0.58
Soy lecithin	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin premix ^a	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Mineral premix ^b	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	1.00
Cellulose	0.00	0.78	1.56	2.33	3.12	0.88

^aVitamin premix 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย vitamin A 12 000 Unit, vitamin D 2000 Unit, vitamin E 3000 mg, vitamin K 20 mg, thiamine HCl 100 mg, riboflavin 150 mg, niacin 500 mg, D-pantothenic acid 500 mg, pyridoxine HCl 25 mg, biotin 1 mg, folic acid 5 mg, vitamin B 12 125 mg, ascorbic acid 1000 mg, choline 1500 mg และ inositol 1 mg

^bMineral premix 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย sodium chloride 3 g, potassium chloride 1 g, magnesium sulphate 1.4 g, ferric citrate 0.2 g, 0.25 g manganese sulphate, 0.01 g potassium iodide, zinc carbonate 0.13 g, copper sulphate 0.01 g and dicalcium phosphate 6 g



Fish meal



Shrimp meal



Soybean meal



Wheat gluten meal



Fish oil



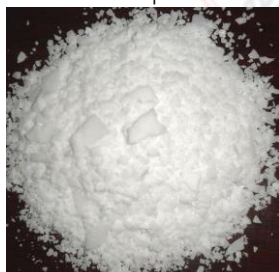
Soybean oil



Mineral premix



Soy lecithin



Dextrin



Cellulose

ภาพที่ 10 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

สำหรับการเตรียมอาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diet (MBD) (ภาพที่ 11) ดำเนินการตามวิธีของ Holme *et al.* (2007) โดยการผสมวัตถุดิบอาหารส่วนแห้งและวัตถุดิบส่วนเปียกในภาชนะที่แยกออกจากกัน (ภาพที่ 9) แล้วจึงนำวัตถุดิบทั้งสองส่วนมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงเติมตัวยึดเกาะหรือสารเหนียว (binder) ลงในส่วนผสมดังกล่าวแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นนำอาหารที่เตรียมดังกล่าวไปอัดเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดอาหารสัตว์ แล้วนำอาหารเม็ดไปอบแห้งในตู้อบ (oven) ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อาหารที่อบแห้งเรียบร้อยแล้วจะถูกนำไปบดในครกให้ละเอียด แล้วร่อนผ่านตะแกรงให้ได้ขนาดที่เหมาะสม หลังจากเตรียมอาหารสูตรต่างๆ ที่มีระดับโปรตีนต่างกันแล้ว และนำอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัดังกล่าว มาวิเคราะห์หองค์ประกอบทางชีวเคมี เช่น กรดอะมิโนและโปรตีน ตามวิธีการในเอกสารของ Unnikrishnan and Paulraj (2010) ซึ่งจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน พบค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย และคาร์โบไฮเดรต ตามรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าโภชนาการของอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

	อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน					
	30%	35%	40%	45%	50%	55%
องค์ประกอบของอาหาร (%)						
ความชื้น (Moisture)	10.47	10.06	12.61	8.62	10.06	7.17
โปรตีน (Crude Protein)	30.71	35.84	38.64	46.34	50.49	55.98
ไขมัน (Crude lipid)	6.95	6.81	6.41	7.49	7.12	6.99
เถ้า (Ash)	8.00	9.74	10.76	12.71	13.99	15.33
เยื่อใย (Crude fiber)	2.20	2.00	2.09	2.11	2.66	2.28
คาร์โบไฮเดรต (NFE)	41.67	35.55	29.49	22.73	15.68	12.25

สำหรับการวิเคราะห์หองค์ประกอบกรดอะมิโนของอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential Amino Acid; EAA) คือ Arginine Histidine Isoleucine Leucine Lysine Methionine Phenylalanine Threonine Tryptophan Valine และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non-Essential Amino Acid; EAA) คือ Alanine Aspartic acid Cystine Glutamic acid Glutamine Glycine Proline Hydroxyproline Serine Tyrosine ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 องค์ประกอบกรดอะมิโน (g/100 g of fresh weight) ของอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน

กรดอะมิโน	อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน					
	30%	35%	40%	45%	50%	55%
กรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential Amino Acid; EAA)						
Arginine	5.75	6.25	4.78	5.84	4.20	6.58
Histidine	0.79	0.96	0.76	1.08	0.84	1.21
Isoleucine	1.44	1.52	1.27	1.98	1.46	1.95
Leucine	2.77	3.07	2.74	3.42	3.24	4.02
Lysine	4.77	4.83	4.02	5.20	4.29	5.91
Methionine	5.57	5.61	4.90	5.41	4.41	4.98
Phenylalanine	1.34	1.56	1.34	1.67	1.68	2.00
Threonine	1.97	2.09	1.59	2.25	1.69	2.47
Tryptophan	0.60	0.63	0.60	0.40	0.77	0.71
Valine	1.65	1.65	1.46	2.19	1.72	2.22
ΣEAA	26.65	28.17	23.46	29.44	24.30	32.05
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non-Essential Amino Acid; EAA)						
Alanine	2.57	2.28	2.28	2.96	2.83	3.45
Aspartic acid	2.20	2.15	1.54	2.66	1.52	2.56
Asparagine	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cysteine	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cystine	0.03	0.41	0.13	0.31	0.27	0.27
Glutamic acid	4.85	4.50	3.84	5.42	3.07	5.93
Glutamine	0.98	1.41	0.80	1.23	1.49	1.60
Glycine	2.80	2.85	2.55	3.50	3.05	4.05
Proline	4.11	4.50	3.72	5.52	3.95	5.98
Hydroxyproline	0.33	0.29	0.23	0.46	0.30	0.51
Serine	2.25	2.21	1.69	2.45	1.80	2.83
Tyrosine	0.57	1.00	0.69	1.02	0.90	1.10
ΣNEAA	4.85	4.50	3.84	5.52	3.95	5.98
ΣEAA/ΣNEAA	5.49	6.26	6.11	5.33	6.15	5.36



ภาพที่ 11 การเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง



3. การศึกษาอัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

3.1 เนื่องจากพฤติกรรมการกินกันเอง (cannibalistic) ของลูกปูระยะต่างๆ อาจทำให้ลดความน่าเชื่อถือของผลการศึกษาด้านการกินอาหารของลูกปูที่เลี้ยงรวมกัน (Genodepa et al., 2004a) ดังนั้นเพื่อขจัดปัญหาการกินกันเอง และเพื่อเป็นการให้มั่นใจว่าปูแสมที่สามารถรอดตายและมีพัฒนาการสู่ระยะถัดไปมาจากการอนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปแบบ microbound diet (MBD) และไม่ได้รับอาหารอื่นเพิ่มเติมจากการกินกันเอง การวิจัยในครั้งนี้จึงนำปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) มาแยกเลี้ยงเดี่ยว (individual culture) ซึ่งวิธีการทดลองในลักษณะนี้ (ภาพที่ 12) ได้ดำเนินการในงานวิจัยอาหารลูกปูชนิดอื่นๆ เช่น Sheen (2000); Holme et al. (2006); Holme et al. (2007) เป็นต้น

3.2 การศึกษาอัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

ทำการสุ่มปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เตรียมไว้ในบ่อคอนกรีต โดยเลือกที่มีลักษณะแข็งแรง เคลื่อนที่ว่องไว และก่อนทำการทดลองต้องนำมาปรับฝึกให้คุ้นเคยกับอาหารสำเร็จรูปก่อนเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงสุ่มนำไปแยกเลี้ยงเดี่ยวในภาชนะพลาสติกที่มีปริมาตร 300 มิลลิลิตรที่ใส่น้ำทะเลที่ปรับให้มีระดับความเค็ม 25 PSU. กรองผ่านด้วยถุงกรองที่มีความละเอียด 1 ไมโครเมตร และอนุบาลด้วยอาหารที่มีระดับโปรตีนต่างกัน โดยแบ่งการทดลองเป็น 6 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองมี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีปูแสมวัยรุ่นตอนต้นที่แยกเลี้ยงเดี่ยวจำนวน 20 ตัว (ภาพที่ 12) ดังนี้

- ชุดทดลองที่ 1 อนุบาลปูแสมวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 30 %
- ชุดทดลองที่ 2 อนุบาลปูแสมวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 35 %
- ชุดทดลองที่ 3 อนุบาลปูแสมวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 40 %
- ชุดทดลองที่ 4 อนุบาลปูแสมวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45 %
- ชุดทดลองที่ 5 อนุบาลปูแสมวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 50 %
- ชุดทดลองที่ 6 อนุบาลปูแสมวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 55 %



ภาพที่ 12 การศึกษาอัตราการรอดตาย การเติบโตและระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporensis* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

อัตราการให้อาหารสำเร็จรูปขนาดเล็ก (MBD) แก่ปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ได้ใช้อัตราส่วนตามที่อ้างในเอกสารของ Catacutan (2002) คือให้จุนอิม โดยทดลองให้อาหารในสัดส่วนต่างๆ กับน้ำหนักตัว และหลังจากนั้น 4 ชั่วโมง จึงตรวจสอบอาหารที่เหลือ หากอาหารเหลือตกค้าง ก็ปรับสัดส่วนอาหารให้น้อยลง จนทราบสัดส่วนที่กินอิม ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ได้ให้อาหารประมาณ 2-3.5% ของน้ำหนักตัว โดยให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน คือ 09.00 และ 16.00 น เพื่อให้แน่ใจว่าลูกปูจะได้รับอาหารตลอดการทดลอง ทุกเช้าก่อนที่จะให้อาหารต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำ ในอัตรา 70% และบันทึกการรอดตายของลูกปู ข้อมูลการรอดตายของปูแสมวัยรุ่นเมื่อสิ้นสุดการทดลองคือปูแสมวัยรุ่นได้เติบโตลอกคราบพัฒนาสู่ระยะถัดไปจะถูกนำมาคำนวณอัตราการรอดตาย (survival rate) ในรูปของร้อยละ (Holme et al., 2006) แล้วเปรียบเทียบอัตราการตายตัวอ่อนปูแสมแต่ละระยะที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนแตกต่างกันด้วยสถิติ ANOVA (Analysis of Variances) ตามเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)

3.3 การศึกษาการเติบโตและระยะเวลาพัฒนาการ (Development duration) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน

สำหรับศึกษาการเติบโตของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกันจะใช้วิธีการเหมือนข้อ 3.2 (ภาพที่ 12) และเก็บข้อมูลการเติบโตตามวิธีของ Andres et al. (2010) คือวัดความกว้างกระดอง (carapace width; CW) และชั่งน้ำหนักเปียก (Wet Weight; WW) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นในแต่ละชุดทดลองในขณะตอนเริ่มทดลองและสิ้นสุดการทดลอง แล้วนำข้อมูลความกว้างกระดองของตัวอ่อนปูแสมมาคำนวณการเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบ (Mouth increment of carapace width; %CW) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Percentage of weight gain; %WG) และการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) ดังแสดงในสูตร

$$\text{Mouth increment of carapace width (\%CW)} = \frac{(\text{final CW} - \text{initial CW})}{\text{Initial CW}} \times 100$$

$$\text{Percentage of weight gain (\%WG)} = \frac{(\text{final WW} - \text{initial WW})}{\text{Initial WW}} \times 100$$

$$\text{Specific growth rate (SGR)} = \frac{(\ln \text{ final CW} - \ln \text{ initial CW})}{\text{Day between stages}} \times 100$$

ให้นำข้อมูลการเพิ่มของความกว้างกระดองหลังการลอกคราบ (Mouth increment of carapace width; %CW) และข้อมูลการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) ปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน มาเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA (Analysis of Variances) ตามเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)

สำหรับการศึกษาระยะเวลาพัฒนาการ (Development duration) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน ได้ดำเนินการโดยเก็บข้อมูลระยะเวลาของพัฒนาการ (development duration) ของปูแสมวัยรุ่นในแต่ละชุดทดลองคือระยะเวลาที่ปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นลอกคราบพัฒนาเข้าสู่ถัดไปแล้วนำข้อมูลระยะเวลาพัฒนาการของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน ไปเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA (Analysis of Variances) ตามวิธีของ Sokal and Rohlf (1995)



4. การศึกษาอัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ้นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

4.1 การออกแบบการทดลองเหมือนข้อ 3.1

4.2 การศึกษาอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน ได้ดัดแปลงจากวิธีของ Genodepa et al. (2004b) การเตรียมอาหารสำเร็จรูปใช้วิธีการเตรียมเหมือนกับการเตรียมในข้อ 3.2 (ภาพที่ 12) โดยใช้สูตรอาหารที่มีโปรตีน 45% เนื่องจากปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้นที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารดังกล่าวมีอัตราการรอดตายสูงสุด และจากการตรวจสอบเอกสารพบว่าขนาดอาหารสำเร็จรูปที่ทดลองอนุบาลกับของปูชนิดต่างๆ ระยะวัยรุ้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง 0.8-2.8 มิลลิเมตรและมีความยาวในช่วง 2-3 มิลลิเมตร (Mu et al., 1998; Catacutan, 2002; Jin et al., 2013; Unnikrishnan and Paulraj, 2010; Nguyen, et al., 2014) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงเตรียมอาหารมีโปรตีน 45% แล้วนำไปผ่านตะแกรงให้ได้ขนาดต่างกัน 4 ขนาดคืออาหารเบอร์ 1 มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 มิลลิเมตร อาหารเบอร์ 2 มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร อาหารเบอร์ 3 มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร และอาหารเบอร์ 4 มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มิลลิเมตร (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 การเตรียมอาหารสำเร็จรูปขนาดต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

หลังจากนั้นทำการสุ่มปูแสมระยะวัยรุ้นตอนต้น (ระยะCrab 3) ที่เตรียมไว้ในบ่อคอนกรีต โดยเลือกปูแสมวัยรุ้นที่มีลักษณะแข็งแรง เคลื่อนที่ว่องไว และก่อนทำการทดลองต้องนำมาปรับฝึกให้คุ้นเคยกับอาหารสำเร็จรูปก่อนเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงสุมนำไปแยกเลี้ยงเดี่ยวในภาชนะพลาสติกที่มีปริมาตร 300 มิลลิลิตรที่ใส่น้ำทะเลที่ปรับให้มีระดับความเค็ม 25 PSU. และอนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปมีขนาดต่างกัน (ภาพที่ 14) สำหรับการทดลองในขั้นนี้จะโดยแบ่งการทดลองเป็น 4 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองมี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีปูแสมวัยรุ้นตอนต้นที่แยกเลี้ยงเดี่ยวจำนวน 20 ตัว ดังนี้

- ชุดทดลองที่ 1 อนุบาลปูแสมวัยรุ้นด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 1 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 มิลลิเมตร)
- ชุดทดลองที่ 2 อนุบาลปูแสมวัยรุ้นด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 2 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร)
- ชุดทดลองที่ 3 อนุบาลปูแสมวัยรุ้นด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร)
- ชุดทดลองที่ 4 อนุบาลปูแสมวัยรุ้นด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มิลลิเมตร)

อัตราการให้อาหารสำเร็จรูปขนาดเล็ก (MBD) แก่ปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ได้ใช้อัตราส่วนเช่นเดียวกับที่อ้างในเอกสารของ Catacutan (2002) คือให้อาหารในสัดส่วนต่างๆ กับน้ำหนักตัว และหลังจากนั้น 4 ชั่วโมง จึงตรวจสอบอาหารที่เหลือ หากอาหารเหลือตกค้างก็ปรับสัดส่วนอาหารให้น้อยลง จนทราบสัดส่วนที่กินอิ่ม ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ได้ให้อาหารประมาณ 2-3.5% ของน้ำหนักตัว โดยให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน คือ 09.00 และ 16.00 น ทุกเช้าก่อนที่จะให้อาหารต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำ ในอัตรา 70% และบันทึกการรอดตายของลูกปู ข้อมูลการรอดตายของปูแสมวัยรุ่นเมื่อสิ้นสุดการทดลองคือปูแสมวัยรุ่นได้เติบโตลอกคราบพัฒนาสู่ระยะถัดไปจะถูกนำมาคำนวณอัตราการรอดตาย (survival rate) ในรูปของร้อยละ (Holme et al., 2006) แล้วเปรียบเทียบอัตราการตายตัวอ่อนปูแสมแต่ละระยะที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดแตกต่างกันด้วยสถิติ ANOVA (Analysis of Variances) ตามเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)

4.3 การศึกษาการเติบโตและระยะเวลาพัฒนาการ (Development duration) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

สำหรับศึกษาการเติบโตของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกันจะใช้วิธีการเหมือนข้อ 4.2 และเก็บข้อมูลการเติบโตตามวิธีของ Andres et al., (2010) เหมือนข้อ 3.3 นอกจากนี้การศึกษาระยะเวลาพัฒนาการ (Development duration) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน ได้ดำเนินการเหมือนข้อ 3.3 โดยเก็บข้อมูลระยะเวลาของพัฒนาการ (development duration) ของปูแสมวัยรุ่นในแต่ละชุดทดลองคือระยะเวลาที่ปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ลอกคราบพัฒนาเข้าสู่ถัดไป คือระยะ Crab 4 แล้วนำข้อมูลระยะเวลาพัฒนาการของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน ไปเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA (Analysis of Variances) ตามวิธีของ Sokal and Rohlf (1995)



ภาพที่ 14 การศึกษาอัตราการรอดตาย การเติบโตและระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน



5. การวิเคราะห์องค์ประกอบชีวเคมีของเนื้อปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน

โดยการอนุบาลปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน เช่นเดียวกับข้อ 3.2. แต่ต้องอนุบาลปูแสม *E. singaporense* วัยรุ่นแต่ละชุดทดลองให้ได้ตัวอย่างลูกปูแสมเพียงพอที่จะวิเคราะห์ แล้วนำตัวอย่างเนื้อของปูแสมเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกั้ดังกล่าวมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี เช่น กรดอะมิโน ตามวิธีการในเอกสารของ Unnikrishnan and Paulraj (2010) ข้อมูลองค์ประกอบชีวเคมีของเนื้อปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกันได้นำมาเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยค่าสถิติ ANOVA (Analysis of Variances) ตามเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)



ผลการวิจัย

1. อัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

1.1. อัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

จากการศึกษาอัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบอัตราการรอดตายอยู่ในช่วง 34.4%-87.5% และพบอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% มีอัตราการรอดตายสูงสุด (87.5%) สำหรับปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 30% มีอัตราการรอดตายต่ำสุด (34.4%) และแตกต่างจากอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 35%-55% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 35%-55% ดังรายละเอียดในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 อัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน	อัตราการรอดตาย (%)
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 30%	34.4±25.8 ^b
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 35%	75.0±10.2 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 40%	78.1±18.8 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45%	87.5±14.4 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 50%	78.1±12.0 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 55%	62.5±17.7 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

1.2. อัตราการเติบโตและระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

จากการศึกษาการเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบ (Mouth increment of carapace width; %CW) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบการเพิ่มความกว้างกระดองหลังจากการลอกคราบอยู่ในช่วง 11.6-19.7% และพบปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% มีการเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบสูงสุด (19.7%) อย่างไรก็ตามพบปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกันมีการเพิ่มขนาดความกว้างกระดองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน	การเพิ่มความกว้างกระดอง หลังจากการลอกคราบ (%CW)
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 30%	13.8±8.6 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 35%	15.6±9.0 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 40%	13.4±7.4 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45%	19.7±7.1 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 50%	10.9±5.5 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 55%	11.6±7.7 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากการเก็บข้อมูลน้ำหนักของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบการเพิ่มของน้ำหนัก (Percentage of weight gain; %WG) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกันในช่วง 18.8-56.7% โดยปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% มีการเพิ่มของน้ำหนักสูงสุด (56.7%) แต่การเพิ่มของน้ำหนักปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การเพิ่มน้ำหนักของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน	การเพิ่มของน้ำหนัก (%WG)
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 30%	27.2±15.2 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 35%	33.4±15.1 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 40%	31.5±12.9 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45%	56.7±13.5 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 50%	30.0±13.5 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 55%	18.75±8.0 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) ของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบในช่วง 0.3-0.7% ต่อวัน โดยปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (0.7 %ต่อวัน) อย่างไรก็ตามของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกันมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% /day)
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 30%	0.5±0.2 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 35%	0.5±0.2 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 40%	0.6±0.4 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45%	0.7±0.1 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 50%	0.3±0.2 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 55%	0.4±0.2 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

สำหรับการศึกษาระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบระยะเวลาพัฒนาการในช่วง 26.0-30.5 วัน และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ระหว่างระยะเวลาพัฒนาการของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน	ระยะเวลาพัฒนาการ (วัน)
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 30 %	27.3±6.1 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 35 %	26.5±5.1 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 40 %	26.0±4.2 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45 %	27.5±6.1 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 50 %	30.5±4.5 ^a
อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 55 %	30.25±5.5 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

2. อัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

2.1 อัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะCrab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

อัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน พบในช่วง 24.1-73.6% และปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มม.) มีอัตราการรอดตายสูงสุด (73.6%) ซึ่งแตกต่างกับอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูป

เบอร์ 1 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 มม.) และอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 2 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0 มม.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0 มม.) และอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มม.) ดังรายละเอียดในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 อัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน	อัตราการรอดตาย (%)
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 1 (0.8 มม.)	24.1±20.4 ^b
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 2 (1.0 มม.)	35.0±28.6 ^b
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (2.0 มม.)	53.7±17.2 ^{ab}
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (2.8 มม.)	73.6±8.3 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2.2 อัตราการเติบโตและระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

อัตราเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบ (Mouth increment of carapace width; %CW) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน พบในช่วง 18.5-22.7% แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอัตราความกว้างกระดองของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 การเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน	การเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบ (%CW)
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 1 (0.8 มม.)	18.5±4.6 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 2 (1.0 มม.)	22.7±5.6 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (2.0 มม.)	20.6±3.9 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (2.8 มม.)	22.7±3.8 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากการเก็บข้อมูลน้ำหนักของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน หลังสิ้นสุดการทดลองพบการเพิ่มของน้ำหนัก (Percentage of weight gain; %WG) ของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกันอยู่ในช่วง 64.5-78.4% โดยของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4

(เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มม.) มีแนวโน้มการเพิ่มของน้ำหนักสูงสุด (78.4%) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ระหว่างการเพิ่มของน้ำหนักของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน ดังรายละเอียดในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 การเพิ่มน้ำหนักของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน	การเพิ่มของน้ำหนัก (%WG)
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 1 (0.8 มม.)	64.5±24.0 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 2 (1.0 มม.)	65.2±28.7 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (2.0 มม.)	74.0±1.95 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (2.8 มม.)	78.4±6.6 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

สำหรับอัตราการเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) ของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน พบในช่วงร้อยละ 1.1-1.6 %ต่อวัน โดยปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0 มม.) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (1.6 %ต่อวัน) อย่างไรก็ตามปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกันมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% /day)
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 1 (0.8 มม.)	1.1±0.3 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 2 (1.0 มม.)	1.2±0.6 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (2.0 มม.)	1.6±0.4 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (2.8 มม.)	1.5±0.1 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ส่วนระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน พบในช่วง 17.9-22.4 วัน และปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (2.0 มม.) และอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มม.) มีแนวโน้มใช้ระยะเวลาพัฒนาการจากระยะ Crab 3 สู่ระยะ Crab 4 น้อยสุด แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ระหว่างระยะเวลาพัฒนาการของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน	ระยะเวลาพัฒนาการ (วัน)
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 1 (0.8 มม.)	22.1±9.2 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 2 (1.0 มม.)	22.4±5.1 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (2.0 มม.)	17.9±2.8 ^a
อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (2.8 มม.)	18.6±1.8 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

3. องค์ประกอบชีวเคมีของเนื้อปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน

สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดอะมิโนของเนื้อปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential Amino Acid; EAA) ได้แก่ Arginine Histidine Isoleucine Leucine Lysine Methionine Phenylalanine Threonine Tryptophan Valine และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non-Essential Amino Acid; EAA) คือ Alanine Aspartic acid Cystine Glutamic acid Glutamine Glycine Proline Hydroxyproline Serine Tyrosine และพบกรดอะมิโนที่จำเป็นมากที่สุดในเนื้อของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% (8.03%) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกรดอะมิโนในเนื้อของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกันที่นอกจากนี้พบอัตราส่วนระหว่างกรดอะมิโนที่จำเป็นและกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นสูงสุดในเนื้อของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% (0.92) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกรดอะมิโนในเนื้อของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน ตามรายละเอียดที่แสดงใน ตารางที่ 15

ตารางที่ 15 องค์ประกอบกรดอะมิโน (g/100 g of fresh weight) ของเนื้อปูแสม
E. singaporense ระยะเวลาวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

กรดอะมิโน	อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน					
	30%	35%	40%	45%	50%	55%
กรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential Amino Acid; EAA)						
Arginine	1.41 ^c	1.79 ^b	1.91 ^a	1.92 ^a	1.34 ^d	0.94 ^c
Histidine	0.24 ^c	0.26 ^d	0.35 ^b	0.37 ^a	0.28 ^c	0.22 ^f
Isoleucine	0.38 ^e	0.48 ^c	0.56 ^a	0.55 ^b	0.44 ^d	0.37 ^f
Leucine	0.68 ^d	0.83 ^c	1.07 ^a	1.04 ^b	0.83 ^c	0.67 ^d
Lysine	1.11 ^d	1.30 ^c	1.80 ^a	1.81 ^a	1.59 ^b	1.08 ^e
Methionine	0.35 ^d	0.39 ^b	0.36 ^c	0.47 ^a	0.36 ^c	0.34 ^e
Phenylalanine	0.40 ^e	0.46 ^d	0.60 ^b	0.64 ^a	0.49 ^c	0.37 ^f
Threonine	0.36 ^d	0.45 ^b	0.55 ^a	0.55 ^a	0.43 ^c	0.34 ^e
Tryptophan	0.15 ^d	0.17 ^c	0.19 ^a	0.19 ^a	0.18 ^b	0.15 ^d
Valine	0.39 ^d	0.50 ^b	0.58 ^a	0.49 ^c	0.39 ^d	0.37 ^e
Σ EAA	5.48 ^e	6.62 ^c	7.97 ^b	8.03 ^a	6.33 ^d	4.85 ^f
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non-Essential Amino Acid; EAA)						
Alanine	0.57 ^d	0.75 ^b	0.86 ^a	0.62 ^c	0.55 ^e	0.55 ^e
Aspartic acid	1.01 ^e	1.51 ^c	1.74 ^a	1.70 ^b	1.43 ^d	1.01 ^e
Asparagine	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cysteine	0.03	0.02	nd	nd	nd	0.01
Cystine	0.08 ^d	0.10 ^c	0.11 ^b	0.15 ^a	0.11 ^b	0.08 ^d
Glutamic acid	1.11 ^e	1.56 ^d	1.77 ^b	1.86 ^a	1.59 ^c	0.97 ^f
Glutamine	1.17 ^b	0.91 ^c	1.47 ^a	1.19 ^b	0.99 ^c	0.92 ^c
Glycine	0.99 ^e	1.29 ^c	1.60 ^a	1.36 ^b	1.09 ^d	0.97 ^f
Proline	0.65 ^c	0.65 ^c	0.91 ^a	0.71 ^b	0.55 ^d	0.48 ^e
Hydroxyproline	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Serine	0.32 ^e	0.42 ^c	0.52 ^a	0.48 ^b	0.38 ^d	0.29 ^f
Tyrosine	0.39 ^d	0.44 ^c	0.53 ^b	0.60 ^a	0.45 ^c	0.35 ^e
Σ NEAA	6.33 ^e	7.66 ^c	9.52 ^a	8.68 ^b	7.13 ^d	5.62 ^f
Σ EAA/ Σ NEAA	0.87 ^c	0.86 ^c	0.84 ^d	0.92 ^a	0.89 ^b	0.86 ^c

หมายเหตุ EAA คือ essential amino acids; NEAA คือ non-essential amino acids; nd คือ ไม่พบในการวิเคราะห์
ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

วิจารณ์ผลการวิจัย

1. อัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

การศึกษาอัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน พบอัตราการรอดตายในช่วง 34.34%-87.5% ซึ่งอัตราการรอดตายของปูน้ำเค็มระยะวัยรุ่นพบในช่วงกว้างตั้งแต่ 0%-100% (Unnikrishnan and Paulraj, 2010; Jin et al., 2013) และการศึกษาครั้งนี้พบปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกันมีอัตราการรอดตายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยอัตราการรอดตายของปูน้ำเค็มระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่ำ (โปรตีน 30%) มีค่าต่ำกว่าอัตราการรอดตายของปูน้ำเค็มระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนสูงกว่า 30% ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่ำ (โปรตีน 30%) มีโปรตีนไม่เพียงพอกับความต้องการของปูแสมระยะวัยรุ่นชนิดนี้ สอดคล้องการศึกษากับอิทธิพลระดับโปรตีนในอาหารสำเร็จรูปต่ออัตราการรอดตายของปูทะเล *Scylla serrata* ระยะวัยรุ่น ที่พบการอนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่ำ (15%) ทำให้ปูทะเลระยะวัยรุ่นไม่สามารถมีชีวิตรอด (100% mortality) ส่วนปูทะเลที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 20% มีอัตราการรอดตาย 87.5 % และปูทะเลที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 25%-55% มีอัตราการรอดตาย 100 % (Unnikrishnan and Paulraj, 2010) แต่แตกต่างกับกับรายงานการวิจัยของ Jin et al., (2013) ที่พบว่าปูม้า *Portunus trituberculatus* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน (31.6%, 36.5%, 41.7%, 45.6%, 50.2%, 55.8%) มีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน โดยมีอัตราการรอดตาย 100% ทุกชุดการทดลอง สาเหตุที่อัตราการรอดตายที่แตกต่างกันระหว่างปูแสมและปูน้ำเค็มชนิดอื่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน อาจเป็นผลจากความแตกต่างของชนิดปู โดยเฉพาะปูชนิดที่จัดเป็นสัตว์กินเนื้อ (carnivorous species) เช่นปูทะเล *Scylla serrata* ที่มีเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนประสิทธิภาพสูง (Unnikrishnan and Paulraj, 2010) แต่ปูแสมจัดเป็นสัตว์ที่กินพืชและกินเนื้อ (Omnivorous species) จึงไม่ต้องการอาหารที่มีโปรตีนสูงเหมือนปูทะเลที่จัดเป็นสัตว์กินเนื้อ (carnivorous species) นอกจากนี้อัตราการรอดตายที่ต่างกันในการทดลองอนุบาลสัตว์น้ำด้วยอาหารต่างๆ อาจมีปัจจัยจากสภาพการเลี้ยงและภาชนะที่ใช้ในการทดลอง (Williams et al., 1999; Zeng and Li, 1999; Hamasaki et al., 2002; Genodepa et al., 2004a; Holme et al., 2006) ซึ่งเห็นได้ชัดจากรายงานของ Genodepa et al. (2004a) ที่พบอัตราการรอดตายของปูทะเล *Scylla serrata* ที่เลี้ยงรวมกันมีอัตราการรอดตายต่ำ (4-5%) เมื่อเทียบกับอัตราการรอดตายของปูทะเลที่แยกเลี้ยงเดี่ยว (individual rearing) ที่พบมีอัตราการรอดตายสูงถึง 90% อย่างไรก็ตามปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกันที่พบอัตราการรอดตาย 34.34%-87.5% เป็นช่วงใกล้เคียงกับอัตราการรอดตายที่พบในการทดลองเกี่ยวกับระดับโปรตีนในอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูน้ำเค็มระยะวัยรุ่น เช่น ปูทะเล *Scylla serrata* และปูม้า *Portunus trituberculatus* (Unnikrishnan and Paulraj, 2010; Jin et al. 2013)

สำหรับการศึกษาการเติบโต (Growth) ของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน พบว่าการอนุบาลปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% ทำให้มีอัตราเพิ่มควมกว้างกระดองหลังการลอก

คราบ (Mouth increment of carapace width; %CW) สูงสุด (19.7%) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างการเพิ่มความกว้างกระดองของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน สำหรับการเพิ่มของน้ำหนัก (Percentage of weight gain; %WG) ของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 45% มีการเพิ่มของน้ำหนัก (Percentage of weight gain; %WG) สูงสุด (56.7%) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างการเพิ่มของน้ำหนักของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกันเช่นกัน ส่วนอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) ของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (0.65%ต่อวัน) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ส่วนการศึกษาระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นใช้ระยะเวลาพัฒนาการจากระยะ Crab 3 สู่ระยะ Crab 4 เท่ากับ 26.0-30.5 วัน และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ระหว่างระยะเวลาพัฒนาการของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน ดังนั้นระดับโปรตีนในอาหารสำเร็จรูปในช่วง 30%-55% จึงยังไม่อยู่ในระดับที่ขาดแคลนจนกระทบต่อพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่น เพราะการขาดแคลนโปรตีนหรือมีระดับโปรตีนในอาหารสำเร็จรูปต่ำกว่าความต้องการ จะมีผลต่อการลอกคราบที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete moulting) และนำไปสู่การตาย อาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่ำกว่าความต้องการมีผลต่อการดำรงชีพ การลอกคราบ และการเติบโตของปูระยะต่างๆ ดังรายงานกล่าวถึงปูทะเล *Scylla serrata* ที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำ (15%-20%) ทำให้มีความถี่การลอกคราบต่ำและใช้ช่วงเวลาในระหว่างลอกคราบนาน (Unnikrishnan and Paulraj, 2010)

จากที่กล่าวมาเมื่อพิจารณาจากข้อมูลการเติบโต (Growth) ของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบแนวโน้มการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 45% สูงกว่าการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนที่ค่อนข้างต่ำ (30%) หรือค่อนข้างสูง (55%) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนค่อนข้างต่ำ ทำให้ปูแสมระยะวัยรุ่นได้รับโปรตีนในอาหารไม่เพียงพอ อาจต้องนำโปรตีนในเนื้อเยื่อที่มีความสำคัญน้อยมาใช้เป็นพลังงานสำหรับเนื้อเยื่อที่มีบทบาทมาก (critical tissues) (Wilson, 2002) ทำให้ลดการเติบโตเนื่องจากสัตว์กลุ่มครัสเตเชียนมีการใช้โปรตีนอย่างต่อเนื่องเพื่อการเจริญเติบโตและการซ่อมแซมเนื้อเยื่อจึงจำเป็นต้องใช้โปรตีนอย่างต่อเนื่อง แต่โปรตีนบางส่วนเท่านั้นที่ถูกนำไปใช้สร้างเนื้อเยื่อ ส่วนปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนค่อนข้างสูง (55%) มีแนวโน้มการเติบโตลดลง การบริโภคอาหารที่มีโปรตีนมากเกินไปได้ทำให้การเติบโตเพิ่มขึ้นตามระดับการเพิ่มของโปรตีนในอาหาร ดังจากรายงานการศึกษาระดับโปรตีนในอาหารของปู *Portunus trituberculatus* ระยะวัยรุ่นที่พบอัตราการเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) และค่าการผลิตโปรตีน (Protein productive value) ไม่ได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อระดับโปรตีนในอาหารเพิ่มจาก

50.2% เป็น 55.8% (Jin et al. 2013) และสอดคล้องกับรายงานของ Catacutan (2002) ที่ได้ศึกษาการเติบโตของปูทะเล *Scylla serrata* พบว่าการเติบโตของปูทะเลวัยรุ้นจะลดลงเมื่อได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนสูงกว่า 40% นอกจากนี้อาหารที่มีโปรตีนมากเกินไป ทำให้เกิดระดับแอมโมเนียซึ่งเป็นของเสียในเลือด (hemolymph) (Rosas et al., 2001) การสะสมสารไนโตรเจน เช่น แอมโมเนียในเลือด (hemolymph) มีผลทางลบต่อ metabolic processes เช่น การควบคุมสมดุลเกลือแร่ในร่างกาย (osmotic pressure balance) และการขนส่งออกซิเจน (oxygen transport) (Guzman et al., 2001) นอกจากนี้ในกรณีที่ได้รับโปรตีนมากเกินไป กรดอะมิโนอิสระสามารถสะสมในของเหลวในร่างกายจนถึงระดับที่เป็นพิษ ทำให้กลไกการเผาผลาญและการเติบโตผิดปกติ (Jin et al. 2013) และโปรตีนส่วนเกินในรูปของเสียที่เป็นไนโตรเจนจะต้องถูกขับออกจากร่างกายซึ่งการขับของเสียส่วนเกินทำให้สิ้นเปลืองพลังงานและเป็นสาเหตุให้ลดการเติบโต (Vergara et al., 1996) หรือมีการเติบโตต่ำกว่าการบริโภคอาหารที่มีปริมาณโปรตีนเหมาะสม ซึ่งทำให้สัตว์สามารถเติบโตได้สูงสุด (Zhou et al., 2007)

ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำเร็จรูปจะแตกต่างกันขึ้นกับชนิด และระยะพัฒนาการ (Holme et al., 2009) นอกจากนี้ความต้องการโปรตีนของสัตว์น้ำอาจขึ้นกับอายุ (age) ขนาด (size) การให้อาหาร (feeding regime) การจัดสรรอาหาร (feed allowance) อุณหภูมิ (water temperature) ความเค็ม (salinity) อัตราการไหลของน้ำ (flow rate) ความหนาแน่น (stock density) องค์ประกอบวัตถุดิบและแหล่งโปรตีน (dietary ingredients and protein sources) (Zhou et al., 2007) สำหรับการศึกษาครั้งนี้เมื่อพิจารณาจากข้อมูลการรอดตายและการเติบโตอาจกล่าวได้ว่าอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 45% มีแนวโน้มเหมาะสมกับปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ้นตอนต้น ซึ่งเป็นระดับโปรตีนในช่วงที่พบในรายงานต่างๆ เช่น รายงานของ Mu et al. (1998) ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับความต้องการโปรตีนของปู *Eriocheir sinensis* ระยะวัยรุ้นและรายงานระดับโปรตีนในอาหารสำเร็จรูปที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 39.0-42.5 % หรือรายงานของ Unnikrishnan and Paulraj (2010) ศึกษาเกี่ยวกับความต้องการโปรตีนของปูทะเล *Scylla serrata* ระยะวัยรุ้นและอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 46.9-47.03% และรายงานของ Jin et al. (2013) ศึกษาเกี่ยวกับความต้องการโปรตีนของปูม้า *Portunus trituberculatus* ระยะวัยรุ้นและพบอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 51.5% ทำให้มีการเติบโตดีที่สุดโดยภาพรวมปูชนิดต่างๆ ที่จัดอยู่ในระยะวัยรุ้นมีความต้องการโปรตีนในช่วง 32-50% ดังรายละเอียดในตารางที่ ตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำเร็จรูปสำหรับปูชนิดต่างๆ ระยะวัยรุ้น

Species	Dietary protein (%)	Reference
<i>Eriocheir sinensis</i>	39-42.5	Mu et al. (1998)
<i>Portunus trituberculatus</i>	51.5	Jin et al. (2013)
<i>Scylla serrata</i>	47.8-48.5	Sheen and Wu (1999)
<i>S. serrata</i>	46.1-47.1	Sheen (2000)
<i>S. serrata</i>	34.2-51.8	Catacutan (2002)
<i>S. serrata</i>	46.9-47.03	Unnikrishnan and Paulraj (2010)
<i>S. serrata</i>	40%	Nguyen, et al. (2014)

2. อัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

จากการศึกษาอัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน พบอัตราการรอดตายสูงสุด (73.6%) เมื่ออนุบาลปูแสมระยะวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มี เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มิลลิเมตร และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับอัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดเล็กกว่าคืออาหารสำเร็จรูปที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง ในช่วง 0.8 - 1.0 มิลลิเมตร ส่วนการศึกษาการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน เช่น การเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบ (%CW) การเพิ่มของน้ำหนัก (%WG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางในช่วง 2.0-2.8 มิลลิเมตรมีแนวโน้มการเติบโตดีกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปขนาดเล็กกว่าที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางในช่วง 0.8 - 1.0 มิลลิเมตร ซึ่งการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของปูชนิดต่างๆ พบว่าปูใช้ปลายก้าม (chelipeds) และปลายขาเดิน (pereopods) และสัมผัสพื้นผิวเพื่อค้นหาอาหาร เมื่อพบอาหารจะใช้ก้ามจับหรือฉีกอาหาร หลังจากนั้นจึงใช้ก้ามข้างใดข้างหนึ่งหรืออาจใช้ก้ามทั้งสองก้ามคีบและประคองอาหารไปยังส่วนหน้าของช่องปาก (Oliveira et al., 2015) หากมีการสูญเสียก้ามจะมีผลต่ออัตราการกินอาหารของปู โดยปูที่สูญเสียก้ามทั้งสองข้างมักมีอัตราการกินอาหารต่ำกว่าปูที่มีก้าม 1 ก้าม และปูที่มีเพียง 1 ก้ามก็มีอัตราการกินอาหารต่ำกว่าปูที่มีก้าม 2 ก้าม (Davis et al., 2005) หลังจากปูใช้ก้ามคีบประคองส่งอาหารไปยังส่วนหน้าของช่องปาก ปลายคืบบริเวณด้านนอกของช่องปาก คือ แมกซิลลิเปดคู่ที่ 3 (third maxillipeds) ทำหน้าที่นำอาหารเข้าสู่ช่องปาก (Ya et al., 2008) การใช้ก้ามจับคีบอาหารที่มีขนาดใหญ่เข้าสู่ช่องปากจึงทำได้ง่าย ส่วนอาหารที่มีขนาดเล็กอาจร่วงหล่นในขณะที่ปูใช้ก้ามจับคีบอาหารเข้าสู่ปาก ทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารที่มีขนาดใหญ่จึงสูงกว่าอาหารที่มีขนาดเล็ก ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎี Optimal foraging theory ที่บ่งชี้ถึงขนาดของอาหารมีอิทธิพลต่อการเลือกกินของสัตว์ทะเล คือสัตว์ทะเลมักชอบเลือกกินอาหารที่มีขนาดใหญ่มากกว่าเลือกกินอาหารที่มีขนาดเล็ก เนื่องจากการกินอาหารที่มีขนาดใหญ่ ทำให้สัตว์ทะเลมีโอกาสที่ได้รับพลังงานมากกว่าและเพียงพอต่อการดำรงชีพและมีชีวิตรอด (Levinton, 2009) เช่นปู *Callinectes sapidus* เลือกกินหอย *Mya arenaria* มากกว่าหอย *Rangia cuneata* เนื่องจากหอย *M. arenaria* มีขนาดใหญ่ (ความยาว 50 -70 มิลลิเมตร) และมีพลังงานสูง (44 จูล) แต่หอย *R. cuneata* มีขนาดเล็ก (ความยาว 30 -40 มิลลิเมตร) และมีพลังงานน้อย (0.07 จูล) (Eersole and Kennedy, 1995) จากเหตุผลที่กล่าวมาอาจส่งผลทำให้อัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสมระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปขนาดใหญ่ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางในช่วง 2.0-2.8 มิลลิเมตรมีแนวโน้มสูงกว่าอัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสมระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดเล็กกว่าคืออาหารสำเร็จรูปที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางในช่วง 0.8 -1.0 มิลลิเมตร ดังนั้นอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางในช่วง 2.0-2.8 มิลลิเมตรจึงเหมาะสมกับปูแสม *E. singaporense* ระยะนี้ ซึ่งอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดดังกล่าวใกล้เคียงกับขนาดของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้อนุบาลปูชนิดอื่นที่มีพัฒนาการอยู่ในระยะวัยรุ่นเช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ขนาดของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้อนุบาลปูชนิดต่างๆ ระยะวัยรุ่น

Species	Diameter (mm.)	Reference
<i>Eriocheir sinensis</i>	3	Mu et al. (1998)
<i>Scylla serrata</i>	2	Catacutan (2002)
<i>S. serrata</i>	1.2	Unnikrishnan and Paulraj (2010)
<i>S. serrata</i>	3	Nguyen, et al. (2014)
<i>Portunus trituberculatus</i>	3,5	Jin et al. (2013); Jin et al. (2015)

3. องค์ประกอบชีวเคมีของเนื้อปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

กรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบตั้งต้นของการสังเคราะห์โปรตีน และเป็นประโยชน์สำคัญในการสร้างกล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อยึดติด เอนไซม์ และ ฮอร์โมน นอกจากนี้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับสังเคราะห์องค์ประกอบ non-protein nitrogenous compounds เช่น coenzymes, nucleic acids, and nucleotides และกรดอะมิโนอาจถูกใช้เป็นแหล่งสำหรับผลิตพลังงานที่มีบทบาทสำคัญในแง่เป็นแหล่งพลังงานภายใน จากการวิเคราะห์องค์ประกอบชีวเคมีของเนื้อปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน พบกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential Amino Acid; EAA) คือ Arginine Histidine Isoleucine Leucine Lysine Methionine Phenylalanine Threonine Tryptophan Valine และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non-Essential Amino Acid; EAA) คือ Alanine Aspartic acid Cystine Glutamic acid Glutamine Glycine Proline Hydroxyproline Serine Tyrosine รายงานต่างๆ ได้กล่าวถึงกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential Amino Acid; EAA) ที่มีบทบาทสำหรับสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน เนื่องจากกรดอะมิโนเป็นสารตั้งต้น (precursors) ของการสังเคราะห์โปรตีนและไม่สามารถสังเคราะห์ได้ใหม่ ดังนั้นปริมาณของกรดอะมิโนพวกนี้ในร่างกายจึงแปรผันตามปริมาณและคุณภาพของอาหารตรงกันข้ามกับการสร้างกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non-essential amino acids) ของครัสเตเชียนที่แปรผันกับระยะพัฒนาการและสิ่งแวดล้อม (Holme et al., 2009) ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบกรดอะมิโนที่จำเป็นในกล้ามเนื้อของปูแสมวัยรุ่นได้รับอิทธิพลจากระดับโปรตีนในอาหาร โดยค่าของกรดอะมิโนที่จำเป็นแต่ละตัวและกรดอะมิโนที่จำเป็นรวมกันได้เพิ่มขึ้นเมื่อระดับโปรตีนในอาหารเพิ่มจาก 30% สู่ 45% สอดคล้องกับรายงานที่ผ่านมาที่พบกรดอะมิโนที่จำเป็นในกล้ามเนื้อของปู *Portunus trituberculatus* ระยะวัยรุ่นทั้งค่าของกรดอะมิโนที่จำเป็นแต่ละตัวและกรดอะมิโนที่จำเป็นรวมกันได้เพิ่มขึ้นเมื่อระดับโปรตีนในอาหารเพิ่มจาก 31.6% สู่ 50.2% (Jin et al., 2013) การที่ปูวัยรุ่นที่กินอาหารโปรตีนต่ำกว่ามีปริมาณของกรดอะมิโนในกล้ามเนื้อต่ำกว่าปูวัยรุ่นที่กินอาหารที่มีโปรตีนสูงกว่า คล้ายกับเปอร์เซ็นต์โปรตีนของอาหารที่กินได้ถูกใช้เพื่อการดำรงชีพ ทำให้พลังงานที่คงเหลือในร่างกายต่ำกว่า (Unnikrishnan and Paulraj, 2010) ส่วนกรดอะมิโนที่จำเป็นที่พบมากในปูวัยรุ่นที่กินอาหารที่มีโปรตีนสูงจะถูกใช้ในกระบวนการเผาผลาญและการสร้างพลังงาน ซึ่งผลที่เป็นเช่นนี้คล้ายกับการศึกษาในปูทะเล *Scylla serrata* ระยะวัยรุ่นเช่นกัน (Unnikrishnan and Paulraj, 2010)

สรุปผลการวิจัย

1. อัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

อัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน อยู่ในช่วง 34.4- 87.5% และพบอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% มีอัตราการรอดตายสูงสุด (87.5%) สำหรับปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 30% มีอัตราการรอดตายต่ำสุด (34.4%) และมีอัตราการรอดตายแตกต่างจากอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 35-55% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 35%-55%

ส่วนผลการศึกษาการเติบโต (Growth) ของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน เมื่อพิจารณาจากข้อมูลอัตราเพิ่มความกว้างกระดองหลังจากการลอกคราบ (Mouth increment of carapace width; %CW) อัตราการเพิ่มของน้ำหนัก (Percentage of weight gain; %WG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่พบแนวโน้มการเติบโตของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45 % มีอัตราเพิ่มความกว้างกระดองหลังจากการลอกคราบ (Mouth increment of carapace width; %CW) อัตราการเพิ่มของน้ำหนัก (Percentage of weight gain; %WG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) สูงกว่าเมื่อเทียบกับการเติบโตปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่ำกว่าหรือสูงกว่า 45 %

สำหรับการศึกษาระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบระยะเวลาพัฒนาการในช่วง 26.0-30.5 วัน และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ระหว่างระยะเวลาพัฒนาการของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน

2. อัตราการรอดตายและการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

อัตราการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน พบอัตราการรอดตายอยู่ในช่วง 24.1-73.6% และปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มม.) มีอัตราการรอดตายสูงสุด (73.6%) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 1 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 มม.) และอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 2 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0 มม.) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างอัตราการรอดตายของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0 มม.)

และอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มม.) สำหรับข้อมูลการเติบโตของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน เช่น การเพิ่มความกว้างกระดองหลังการลอกคราบ (Mouth increment of carapace width; %CW) การเพิ่มของน้ำหนัก (Percentage of weight gain; %WG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) พบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ส่วนการศึกษาระยะเวลาพัฒนาการของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นตอนต้น (ระยะ Crab 3) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน พบระยะเวลาพัฒนาการอยู่ในช่วง 17.9-22.4 วันและพบแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยด้วยอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 3 (2.0 มม.) และอาหารสำเร็จรูปเบอร์ 4 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มม.) มีแนวโน้มใช้ระยะเวลาพัฒนาการจากระยะ Crab 3 สู่วัยรุ่น Crab 4 น้อยสุด แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ระหว่างระยะเวลาพัฒนาการของปูแสมระยะวัยรุ่นตอนต้นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีขนาดต่างกัน

3. องค์ประกอบชีวเคมีของเนื้อปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่างกัน

องค์ประกอบกรดอะมิโนของเนื้อปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน พบกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential Amino Acid; EAA) คือ Arginine Histidine Isoleucine Leucine Lysine Methionine Phenylalanine Threonine Tryptophan Valine และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non-Essential Amino Acid; EAA) คือ Alanine Aspartic acid Cystine Glutamic acid Glutamine Glycine Proline Hydroxyproline Serine Tyrosine และพบกรดอะมิโนที่จำเป็นมากสุดในเนื้อของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% (8.03%) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกรดอะมิโนในเนื้อของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกันที่ นอกจากนี้พบอัตราส่วนระหว่างกรดอะมิโนที่จำเป็นและกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นสูงสุดในเนื้อของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 45% (0.92) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกรดอะมิโนในเนื้อของปูแสม *E. singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่างกัน

เอกสารอ้างอิง

- บรรจง เทียนสงฆ์ศรี. 2552. ปูแสม...กำลังวิกฤติ ร่วมคิดร่วมเลี้ยงปู ดูแลป่า แก้ปัญหา พัฒนาป่าชุมชน. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) กรุงเทพฯ. 104 หน้า
- ด้านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดตราด. กรมประมง. 2559. สรุปข้อมูลการนำเข้า - ส่งออกสินค้าสัตว์น้ำ ชากสัตว์น้ำในแต่ละปีงบประมาณ. ด้านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดตราด. กรมประมง. เว็บไซต์: <http://tdprovince.fishquarantine.org/%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%AD%E0%B8%A1%E0%B8%B9%E0%B8%A5%E0%B8%99%E0%B8%B3%E0%B9%80%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%20%E0%B8%AA%E0%B9%88%E0%B8%87%E0%B8%AD%E0%B8%AD%E0%B8%81.html> (เข้าถึงเมื่อ 8 สิงหาคม 2559)
- เสาวลักษณ์ กิรติหัตถยากร และอารยา ส่องสร 2557. การศึกษาปริมาณตะกั่วและแคดเมียมในปูเค็มที่นำเข้า ณ. จังหวัดระนอง วารสารอาหารและยา ฉบับเดือนกันยายน-ธันวาคม: 47-56.
- Andrés, M., Rotllant, G. and Zeng, C., 2010. Survival, development and growth of larvae of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus*, cultured under different photoperiod conditions. *Aquaculture* 300: 218–222.
- Ashton, E.C. 2002. Mangrove sesamid crab feeding experiments in Peninsular Malaysia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 273: 97–119.
- Bouillon, S., Koedam, N., Raman, A.V., and Dehairs, F., 2002. Primary producers sustaining macro-invertebrate communities in intertidal mangrove forests. *Oecologia* 130: 441-448.
- Catacutan, M.R., 2002. Growth and body composition of juvenile mud crab, *Scylla serrata*, fed different dietary protein and lipid levels and protein to energy ratios. *Aquaculture* 208: 113–123.
- D'Abramo, L.R., Perez, E.I., Sangha, R., and Puello-Cruz, A., 2006. Successful culture of larvae of *Litopenaeus vannamei* fed a microbound formulated diet exclusively from either stage PZ2 or M1 to PL1. *Aquaculture* 261: 1356–1362.
- Davis, J.L.D., Dobroski, N.A., Carlton, J.T., Prevas, J., Parks, S., Hong, D., and Southworth, E. 2005. Autotomy in the Asian shore crab (*Hemigrapsus sanguineus*) in non-native area of its range. *Journal of crustacean biology* 25(4): 655–660.
- Ebersole, E.L. and Kennedy, V.S. 1995. Prey preferences of blue crabs *Callinectes sapidus* feeding on three bivalve species. *Marine Ecology Progress Series* 118: 167-177.
- Fegan, D., 2004. Larval Shrimp Nutrition. *Global Aquaculture Advocate*, 64–66.
- Genodepa, J., Zeng, C., and Southgate, P.C., 2004a. Preliminary assessment of a microbound diet as an *Artemia* replacement for mud crab, *Scylla serrata*, megalopa. *Aquaculture* 236: 497–509.

- Genodepa, J., Southgate, P. C., and Zeng, C., 2004b. Diet particle size preference and optimal ration for mud crab, *Scylla serrata*, larvae fed microbound diets. *Aquaculture* 230: 493–505.
- Genodepa, J., Southgate, P. C., and Zeng, C., 2006. Determining ingestion of microbound diet particles by mud crab, *Scylla serrata*, larvae. *Journal of fisheries and aquatic science* 1(3): 244-252.
- Glencross, B.D., 2006. The nutritional management of barramundi, *Lates calcarifer* - a review. *Aquaculture Nutrition* 12: 291–309.
- Guillaume, J., 1997. Protein and amino acids. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D., Akiyama, D. (Eds.), *Crustacean Nutrition Advances in World Aquaculture*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- Guzman, C., Gaxiola, G., Rosa, C., and Torre-Blanco, A., 2001. The effect of dietary protein and total energy content on digestive enzyme activities, growth and survival of *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus 1767) postlarvae. *Aquaculture Nutrition* 7: 113–122.
- Hamasaki, K., Suprayudi, S.M., Takeuchi, T., 2002. Effects of dietary n-3HUFA on larval morphogenesis and metamorphosis to megalops in the seed production of the mud crab, *Scylla serrata* (Brachyura: Portunidae). *Suisanzoshoku* 50: 333–340.
- Holme, M., Zeng, C. and Southgate, P. C., 2006. Use of microbound diets for larval culture of the mud crab, *Scylla serrata*. *Aquaculture* 257: 482–490.
- Holme, M., Southgate, P. C. and Zeng, C., 2007. Survival, development and growth response of mud crab, *Scylla serrata*, megalopae fed semi-purified diets containing various fish oil:corn oil ratios. *Aquaculture* 269: 427–435.
- Holme, M., Zeng, C. and Southgate, P. C., 2009. A review of recent progress toward development of a formulated microbound diet for mud crab, *Scylla serrata*, larvae and their nutritional requirements. *Aquaculture* 286: 164–175.
- Jones, D.A., Kamarudin, M.S., and Le Vay, L., 1993. The potential for replacement of live feeds for marine suspension feeders. *Journal of World Aquaculture Society* 24: 199–210.
- Jin, M., Zhou, Q., Zhang, W., Xie, F., ShenTu, J., and Huang, X. 2013. Dietary protein requirements of the juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture* 414-415: 303–308.
- Jin, M., Wang, M.Q., Huo, Y.W., Huang, W.W., Mai, K.S., and Zhou, Q.C. 2015. Dietary lysine requirement of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture* 448:1–7.
- Kent, C.P.S. and McGuinness, K.A. 2008. Feeding selectivity of sesarmid crabs from northern Australian mangrove forests. *The Beagle: Records of the Museums and Art Galleries of the Northern Territory* 24:23-31

- Knauer, J., and Southgate, P.C., 1999. A review of the nutritional requirements of bivalves and the development of alternative and artificial diets for bivalve aquaculture. *Reviews in Fisheries Science* 7: 241–280.
- Kristensen, E. 2008. Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. *Journal of Sea Research* 59: 30 – 43.
- Kristensen, D.K., Kristensen, E., and Mangion, P. 2010. Food partitioning of leaf-eating mangrove crabs (Sesarinae): Experimental and stable isotope (^{13}C and ^{15}N) evidence. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 87: 583-590.
- Langdon, C., 2003. Microparticle types for delivering nutrients to marine fish larvae. *Aquaculture* 227: 259–275.
- Lee, S. Y. 1998. Ecological role of grapsid crabs in mangrove ecosystems: a review. *Marine and Freshwater Research* 49 (4): 335–343.
- Lee, B.Y., Ng, N.K., and Ng, P.K.L. 2015. The taxonomy of five species of *Episesarma* De Man, 1895, in Singapore (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Sesarmidae). *Raffles Bulletin of Zoology Supplement No. 31*: 199–215.
- Levinton, J.S. 2009. *Marine biology: function, biodiversity, ecology*. Oxford University Press. 588 pp
- Mu, Y.Y., Shim, K.F., and Guo, J.Y., 1998. Effects of protein level in isocaloric diets on growth performance of the juvenile Chinese hairy crab, *Eriocheir sinensis*. *Aquaculture* 165: 139–148.
- Naiyanetr P., 2007. Checklist of Crustaceans Fauna in Thailand (Decapoda, Stomatopoda, Anostraca, Myodocopa and Isopoda). Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand: pp. 113-114.
- Ng, P.K.L. 1998. Crabs. In *Carpenter K.E. and Niem V.H. (eds.) FAO species identification guide for fishery purposes: the living marine resources of the western central Pacific volume 2. Cephalopods, crustaceans, holothurians and sharks*. Food and Agricultural Organisation, Rome, Italy: pp. 1143-1146.
- Nguyen, N.T.B., Chim, L., Lemaire, P., and Wantiez, L. 2014. Feed intake, molt frequency, tissue growth, feed efficiency and energy budget during a molt cycle of mud crab juveniles, *Scylla serrata* (Forskål, 1775), fed on different practical diets with graded levels of soy protein concentrate as main source of protein. *Aquaculture* 434: 499–509.
- Oliveira, D.N., Christofolletti, R.A., and Barreto, R.E. 2015. Feeding Behavior of a Crab According to Cheliped Number. *PLoS ONE* 10(12): 1-7.
- Phithakpol, B., Varayanond, W., Reungmaneeaitoon, S. and Wood, H. 1995. *The Traditional Fermented Foods of Thailand*. ASEAN Food Handling Bureau. Kuala Lumpur: pp. 6–9.

- Rosas, C., Cuzon, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G., and Wormhoudt, V.A., 2001. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). *Aquaculture Research* 32:531–547.
- Sheaves, M., and Molony, B. 2000. Short-circuit in the mangrove food chain. *Marine Ecology Progress Series* 199: 97–109.
- Sheen, S.S. and Wu, S.W., 1999. The effects of dietary lipid levels on the growth response of juvenile mud crab *Scylla serrata*. *Aquaculture* 175: 143-153.
- Sheen, S.S., 2000. Dietary cholesterol requirements of juvenile mud crab *Scylla serrata*. *Aquaculture* 189: 277–285.
- Shokita, S., 2004. The role of aquatic animals in mangrove ecosystem. In Vannucci, M. (ed.), *Mangrove management and conservation*, United nation university press, New York, USA. Pp 76-110.
- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J., 1995. *Biometry; The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Freeman, New York, NY. 887 pp.
- Southgate, P.C., and Partridge, G.J., 1998. Development of artificial diets for marine finfish larvae: problems and prospects. In: De Silva, S. (Ed.), *Tropical Mariculture*. Academic Press, London, UK, pp. 151–170.
- Sumpavapol, P., Tongyonk, L., Tanasupawat, S., Chokesajjawatee, N., Luxanani, P., and Visessanguan, W. 2010. *Bacillus siamensis* sp. nov., isolated from salted crab (pookhem) in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60; 2364–2370.
- Tan, C.G.S. and Ng, P.K.L. 1994. An annotated checklist of mangrove brachyuran crabs from Malaysia and Singapore. *Hydrobiologia* 285 (1-3): 75–84.
- Thongtham, N., and Kristensen, E., 2005. Carbon and nitrogen balance of leaf-eating sesamid crabs (*Neopisesarma versicolor*) offered different food sources. *Estuarine, coastal and shelf science*. 65: 213-222.
- Thimdee, W., Deen, G., Sangrungruang, C., and Matsunaga, K. 2004. Analysis of primary food sources and trophic relationships of aquatic animals in a mangrove-fringed estuary, Khung Krabaen Bay (Thailand) using dual stable isotope techniques. *Wetlands Ecology and Management* 12: 135-144.
- Thongtham, N., and Kristensen, E., 2005. Carbon and nitrogen balance of leaf-eating sesamid crabs (*Neopisesarma versicolor*) offered different food sources. *Estuarine, coastal and shelf science* 65: 213-222.

- Thongtham, N, Kristensen, E., and Puangprasan, S., 2008. Leaf removal by sesarmid crabs in Bangrong mangrove forest, Phuket, Thailand; with emphasis on the feeding ecology of *Neopisesarma versicolor*. *Estuarine, coastal and shelf science* 80 (4): 573-580.
- Unnikrishnan, U and Paulraj, R., 2010. Dietary protein requirement of giant mud crab *Scylla serrata* juveniles fed iso-energetic formulated diets having graded protein levels. *Aquaculture Research* 41 (2): 278-294.
- Vergara, J.M., Fernandez-Palacios, H., Robaina, L., Jauncey, K., De La Higuera, M., and Izquierdo, M. 1996. The effects of varying dietary protein level on the growth, feed efficiency, protein utilization and body composition of gilthead sea bream. *Fisheries Science* 62: 620–623.
- Williams, G.R., Wood, J., Dalliston, B., Shelley, C., Khu, C.M., 1999. Mud crab (*Scylla serrata*) megalopa larvae exhibit high survival rates on Artemia-based diets. In: Keenan, C.P., Blackshaw, A. (Eds.), *Mud Crab Aquaculture and Biology*. ACIAR Proceedings, vol. 78. ACIAR, Canberra, Australia, pp. 131–137.
- Wilson, R.P., 2002. Amino acid and proteins, In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, 3rd ed. Academic Press, London, pp. 144–174.
- Ya, B.P., Yeo, D.C.J., and Todd, P.A. 2008. Feeding Ecology of Two Species of *Perisesarma* (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Sesarmidae) in Mandai Mangroves, Singapore. *Journal of crustacean biology* 28(3): 480–484.
- Zeng, C., and Li, S., 1999. Effects of density and different combinations of diets on survival, development, dry weight and chemical composition of larvae of the mud crab, *Scylla paramamosain*. In: Kenaan, C., Blackshaw, A. (Eds.), *Mud Crab Aquaculture and Biology*. ACIAR Proceedings No. 78, Canberra, Australia, pp. 159–166.
- Zhou, J.B., Zhou, Q.C., Chi, S.Y., Yang, Q.H., and Liu, C.W., 2007. Optimal dietary protein requirement for juvenile ivory shell, *Babylonia areolate*. *Aquaculture* 270 (1–4):186–192.