รายงานการวิจัย

คุณภาพของตัวอ่อนและการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม*Episesarma singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

Larva quality and reproductive response of the sesarmid crab *Episesarma singaporense* fed dietary lipid levels

ชาญยุทธ สุดทองคง Chanyut Sudtongkong

วัฒนา วัฒนกุล Wattana Wattanakul

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2561

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่อง คุณภาพของตัวอ่อนและการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *Episesarma singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย พ.ศ. 2561 และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่สนับสนุนปัจจัยพื้นฐานการวิจัย เช่น โรงเรือนครุภัณฑ์วิทยาศาสตร์ และอุปกรณ์อื่นๆ ทำให้การดำเนินการวิจัยในครั้งนี้บรรลุตามวัตถุประสงค์ และใคร่ขอบคุณทีมวิจัยห้องปฏิบัติการวิจัยปูน้ำเค็ม (Marine Crab Research Laboratory) ประกอบด้วย นายมูฮัมหมาด จิตรณรงค์ และ น.ส.ศุภรัตน์ คงโอ ที่ช่วยเก็บข้อมูลการวิจัยในครั้งนี้

คุณภาพของตัวอ่อนและการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *Episesarma singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

ชาญยุทธ สุดทองคง และวัฒนา วัฒนกุล

บทคัดย่อ

การศึกษาเกี่ยวกับคุณภาพของตัวอ่อนและการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *Episesarma singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันได้ดำเนินการด้วยการเลี้ยงปูแสมด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 8% 10% 12% และ อาหารสด จากผลการศึกษาการตอบสนองการสืบพันธุ์พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดอง อัตราการมีไข่นอกกระดอง อัตราความสำเร็จในการฟักไข่ ความดกไข่ ขนาดและปริมาตรและอัตราการฟักไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ส่วนการศึกษาคุณภาพตัวอ่อน พบความแตกต่างระหว่างทนทานด้วยการอดอาหารของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมเลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน นอกจากนี้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี (Biochemical analysis) ของไข่ปูแสม พบกรดไขมันต่างๆ ได้แก่ Palmitic acid (C16:0), Palmitoleic acid (C16:1), Linoleic acid (C18:2n6c), Oleic acid (C18:1n9c), Arachidonic acid (C20:4n6), Eicosapentaenoic acid (C20:5n3) และ Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6n3)

คำสำคัญ: ปูแสม *Episesarma singaporense,* ไขมัน, การตอบสนองการสืบพันธุ์, คุณภาพตัวอ่อน

Larva quality and reproductive response of the sesarmid crab *Episesarma singaporense* fed dietary lipid level

Chanyut Sudtongkong and Wattana Wattanakul

Abstract

Investigation on larva quality and reproductive response of the sesarmid crab *Episesarma singaporense* fed dietary lipid levels was conducted by fed fresh feed and formulated diets, which contained various lipid levels, 8%, 10%, and 12% to the crabs. The results revealed that there were no significant differences in survival of females before spawning, percentage of female spawned, percentage of berried females successfully hatched, fecundity, size and volume, and egg hatchability of the sesarmid crabs that fed with different lipid levels ($P>0.05$). For larva quality study, we found significant differences in tolerance to the starvation of the larvae that their spawned female fed with different diets. In addition, biochemical composition analysis showed that fatty acid e.g. Palmitic acid (C16:0), Palmitoleic acid (C16:1), Linoleic acid (C18:2n6c), Oleic acid (C18:1n9c), Arachidonic acid (C20:4n6), Eicosapentaenoic acid (C20:5n3) and Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6n3), accumulated in sesarmid eggs after fed with different diets.

Keywords: Sesarmid crab *Episesarma singaporense*, lipid, reproductive response, larva quality

สารบัญ

เนื้อเรื่อง	หน้า
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	2
ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	20
สรุปผลการวิจัย	38
เอกสารอ้างอิง	40

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของวัตถุดิบทั่วไป (Common ingredients) 10
ตารางที่ 2 สัดส่วนของวัตถุดิบสำหรับอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างๆ 11
ตารางที่ 3 อัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน 20
ตารางที่ 4 อัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ 21
ตารางที่ 5 อัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ 22
ตารางที่ 6 อัตราการมีไข่นอกกระดองของปูชนิดต่างๆ 23
ตารางที่ 7 อัตราความสำเร็จในการฟักไข่ระหว่างปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน 24
ตารางที่ 8 ความดกไข่ (Fecundity) ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ 25
ตารางที่ 9 ความดกไข่ของปูชนิดต่างๆ จากประชากรปูในแหล่งอาศัยธรรมชาติ 27
ตารางที่ 10 ความดกไข่ของปูชนิดต่างๆ ที่ได้จากการเลี้ยงแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟัก 27
ตารางที่ 11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน 28
ตารางที่ 12 ปริมาตรของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน 28
ตารางที่ 13 น้ำหนักของไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกัน 29
ตารางที่ 14 อัตราการฟักไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน 30
ตารางที่ 15 อัตราการฟักไข่ของปูชนิดต่างๆ ที่ได้จากการเลี้ยงแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟัก 30
ตารางที่ 16 กรดไขมันกลุ่ม n-3 HUFA ที่พบในไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ 31
ตารางที่ 17 ระยะเวลาการพัฒนาของไข่ (วัน) ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน 32
ตารางที่ 18 ความทนทานการอดอาหารของตัวอ่อนปูแสมระยะ Zoea 1ที่ได้จากแม่พันธุ์ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกัน 33

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง **หน้า**

ตารางที่ 19 อัตราการรอดตายของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน 34

ตารางที่ 20 ระยะเวลาพัฒนาการของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน 35

ตารางที่ 21 องค์ประกอบทางชีวเคมี (Biochemical analysis) ของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

ภาพที่ 1 การเตรียมน้ำทะเลเพื่ออนุบาลตัวอ่อนปูแสม 3
ภาพที่ 2 ระบบกรองน้ำเพื่ออนุบาลตัวอ่อนปูแสม 4
ภาพที่ 3 การเพาะพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. และการเพาะโรติเฟอร์ 6
ภาพที่ 4 การเพาะอาร์ทีเมียสำหรับเป็นอาหารของตัวอ่อนปูแสม 6
ภาพที่ 5 การเลี้ยงแม่พันธุ์ปูแสม 7
ภาพที่ 6 การเตรียมตัวอ่อนปูแสมเพื่อใช้ในทดลอง 8
ภาพที่ 7 ตัวอ่อนปูแสม *E. singaporense* ระยะ Megalopa 9
ภาพที่ 8 ตัวอ่อนปูแสม *E. singaporense* ระยะ Crab 1 9
ภาพที่ 9 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง 11
ภาพที่ 10 การเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง 12

บทนำ

ปูแสม *Episesarma singaporense* เป็นปูที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของปูแสม 4 ชนิดที่คนไทยนิยมจับมาแปรรูปเป็นปูเค็มเพื่อบริโภคและจำหน่ายเป็นรายได้ ปัจจุบันผลผลิตปูแสมของประเทศไทยมีแนวโน้มไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ เนื่องจากการบริโภคปูแสมของคนไทยเท่ากับ 18,000 ตัน ต่อปี แต่ผลผลิตปูแสมของประเทศไทยประมาณ 12,000 ตัน ต่อปี ไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ จึงต้องนำเข้าปูแสมจากต่างประเทศ (บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2552) ซึ่งแนวโน้มการขาดแคลนปูแสมเพื่อการบริโภคในประเทศจะมีมากยิ่งขึ้น เนื่องจากผลผลิตปูแสมทั้งหมดได้จากการจับจากแหล่งอาศัยในธรรมชาติ ดังรายงานของด่านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดตราด กรมประมง แสดงข้อมูลการนำเข้าปูแสมจากประเทศเพื่อนบ้านระหว่างปี พ.ศ.2556 เท่ากับ 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) แม้ว่าปูแสมชนิดนี้เป็นปูที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และมีแนวโน้มขาดแคลนไม่เพียงพอต่อการบริโภคของคนไทย เนื่องจากปูแสมที่ใช้บริโภคทั้งหมดได้จากการจับจากแหล่งอาศัยธรรมชาติในป่าชายเลน แต่ความรู้เกี่ยวกับการเพาะพันธุ์ปูแสมในประเทศไทยยังมีน้อยมาก เช่น อาหารของแม่พันธุ์ปูแสมต่อคุณภาพของตัวอ่อนและการตอบสนองในการสืบพันธุ์ เป็นต้น

อาหารของแม่พันธุ์สัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียน มีบทบาทสำคัญต่อความสำเร็จในการสืบพันธุ์และส่งผลต่อการสมบูรณ์ของรังไข่ ความดกไข่ และการฟักไข่ (Millamena and Quinitio, 2000) นักวิจัยจึงสนใจศึกษาประเด็นวิจัยเกี่ยวกับอาหารของแม่พันธุ์สัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียน เพื่อควบคุมคุณภาพตัวอ่อนเพื่อการเพาะพันธุ์เชิงพาณิชย์ แต่ข้อมูลเกี่ยวกับอาหารที่มีอิทธิพลกับกับการสมบูรณ์เพศ และการสืบพันธุ์ของครัสเตเชียนแต่ละชนิดยังจำกัด (Harrison, 1990; Djunaidah *et al.,* 2003) โดยทั่วไปในอดีตการใช้อาหารสด เช่น ปลา กุ้ง หอย เพื่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปูชนิดต่างๆ เนื่องจากอาหารสดมักมีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Cahu *et al.,* 1995) แต่ข้อเสียของอาหารสดคือมีความแปรปรวนของคุณค่าทางโภชนาการสูง เน่าเสียง่าย มีผลต่อคุณภาพน้ำ และเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบาด (Wu *et al.,* 2007) ทำให้นักวิจัยได้วิจัยเกี่ยวกับเพื่อใช้อาหารสำเร็จรูปทดแทนอาหารสด เช่น การเลี้ยงแม่พันธุ์ปูชนิดต่างๆ ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีคุณค่าทางโภชนาการต่างกัน เพื่อศึกษาคุณภาพของตัวอ่อน ดังรายงานการศึกษาเปรียบเทียบการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปู *Eriocheir sinensis* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปและอาหารสด (Wen *et al.*, 2002) การศึกษาคุณภาพของตัวอ่อนของปู *Eriocheir sinensis* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีสัดส่วนของ Phospholipids และ Highly unsaturated fatty acids (PL/HUFA) ต่างกัน (Wu *et al.*, 2007) และการศึกษาประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของปู *Scylla serrata* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างๆ (Alava *et al.,* 2007) แต่ยังไม่พบในรายงานวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศเกี่ยวกับคุณภาพตัวอ่อนของปูแสม *Episesarma singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีคุณค่าทางโภชนาการต่างกัน

ดังนั้นจึงทำการวิจัยเกี่ยวกับคุณภาพตัวอ่อนและการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *Episesarma singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน ซึ่งประโยชน์ในการ

พัฒนาอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมสำหรับแม่พันธุ์ปูแสม เพื่อผลิตตัวอ่อนปูแสมที่มีคุณภาพ โดยคาดว่าองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาอาหารและการเลี้ยงแม่พันธุ์ปูแสม *Episesarma singaporense* ในโรงเพาะฟัก นำไปสู่การพัฒนาระบบการผลิตปูแสม ทดแทนผลผลิตปูแสมที่จับจากธรรมชาติที่มีแนวโน้มขาดแคลนต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อเพิ่มความมั่นคงทางอาหารของประเทศไทย

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาคุณภาพตัวอ่อนและการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน จะดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการวิจัยปูน้ำเค็ม (Marine Crab Research Laboratory) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง ซึ่งสามารถสรุปขั้นตอนการดำเนินการวิจัยได้ดังนี้

1. การเตรียมการทดลอง

1.1 การเตรียมน้ำทะเล

นำน้ำทะเลธรรมชาติมาใส่ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร โดยปรับให้น้ำทะเลมีระดับความเค็มตามความต้องการโดยการเติมน้ำจืดลงไป หลังจากนั้นเติมคลอรีนผงในอัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำทะเล 1 ตัน ให้อากาศแรงๆ และทิ้งไว้ประมาณ 2-3 วันจนหมดคลอรีน ก่อนนำน้ำทะเลที่เตรียมไว้มาอนุบาลลูกปูแสมต้องตรวจสอบการตกค้างของคลอรีนด้วยโปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI) ก่อนและต้องกรองน้ำด้วยถุงกรองแพลงก์ตอนพืชก่อนนำไปอนุบาลทุกครั้ง

ภาพที่ 1 การเตรียมน้ำทะเลเพื่ออนุบาลตัวอ่อนปูแสม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ภาพที่ 2 ระบบกรองน้ำเพื่ออนุบาลตัวอ่อนปูแสม

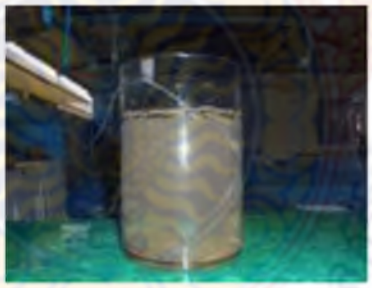
1.2 การเตรียมอาหารสำหรับการอนุบาลปูแสมวัยอ่อน

–การเพาะขยายสาหร่าย *Chlorella* sp. เพื่อเป็นอาหารโรติเฟอร์ โดยนำหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. จากหลอดแก้วมาขยายต่อในฟลาสก์ 1 ลิตรและจากฟลาสก์ 1 ลิตร มาขยายในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร โดยใช้น้ำทะเลที่เตรียมไว้ เติมปุ๋ยเป็นอาหารของ *Chlorella* sp. คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 100 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน แคลเซียมซุปเปอร์ฟอสเฟต 15 กรัมต่อน้ำ 1 ตันและยูเรีย 5 กรัมต่อน้ำ 1 ตัน นำโหลไปวางในที่มีแสงสว่างพร้อมให้อากาศ เมื่อ *Chlorella* sp. ขยายจนมีสีเขียวเข้มแล้ว จึงนำไปขยายในถังไฟเบอร์ขนาด 1 ตัน เพื่อเตรียมไว้เลี้ยงโรติเฟอร์ และต้องเก็บหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. ไว้ เพื่อเตรียมไว้ขยายสำหรับเลี้ยงโรติเฟอร์ในโอกาสต่อไป

–การเพาะขยายโรติเฟอร์เพื่อเป็นอาหารปูแสมวัยอ่อน โดยเตรียมถังพลาสติกขนาด 500 ลิตรแล้วนำ *Chlorella* sp. มาใส่ประมาณ 60 ลิตร นำโรติเฟอร์มาใส่ 15 ลิตร ปรับความเค็มของน้ำทะเลในตู้กระจกให้ได้ 15-20 psu เพื่อให้เหมาะสมกับการเจริญของโรติเฟอร์และลดการเพิ่มจำนวนของโคพีพอด เมื่อโรติเฟอร์มีความหนาแน่นเพียงพอ จึงทำการกรองด้วยสวิงเพื่อนำไปอนุบาลปูแสมวัยอ่อน โรติเฟอร์ส่วนหนึ่งต้องนำไปเลี้ยงในถังเพาะโรติเฟอร์เพื่อเตรียมไว้ใช้ในโอกาสต่อไป

–การเพาะอาร์ทีเมีย โดยนำไข่ของอาร์ทีเมียมาแช่คลอรีนไว้ประมาณ 5 นาที ล้างคลอรีนออกให้หมดแล้วนำไปเพาะในโหลขนาด 10 ลิตร โดยใช้น้ำทะเลที่เตรียมไว้และให้อากาศแรงๆ เพื่อให้ไข่อาร์ทีเมียกระจายทั่วโหล ทิ้งไว้ประมาณ 24-48 ชั่วโมง จึงทำการรวบรวมอาร์ทีเมียไปใช้อนุบาลปูแสมวัยอ่อน การเก็บเกี่ยวอาร์ทีเมียทำโดยใช้ผ้าเทปสีดำปิดรอบโหลโดยเว้นข้างล่างไว้ประมาณ 1 นิ้ว ปิดอากาศเพื่อให้ตัวอาร์ทีเมียว่ายลงมาอยู่บริเวณก้นโหล จากนั้นใช้สายยางดูดเอาตัวอ่อนอาร์ทีเมียที่อยู่ข้างล่างไปอนุบาลลูกปูวัยอ่อนต่อไป

ภาพที่ 3 การเพาะพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. และการเพาะโรติเฟอร์

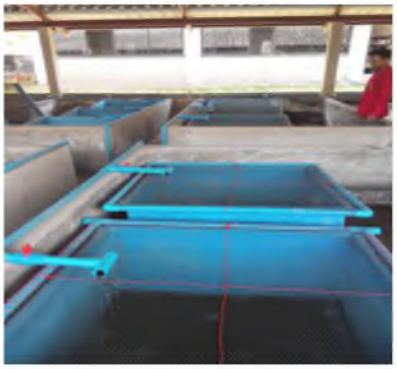


ภาพที่ 4 การเพาะอาร์ทีเมียสำหรับเป็นอาหารของตัวอ่อนปูแสม

1.3 การเลี้ยงแม่พันธุ์ปูแสม

ทำการรวบรวมแม่พันธ์ปูแสมชนิด *E. singaporense* จากป่าชายเลนในจังหวัดตรัง แม่พันธ์ที่รวบรวมได้จะถูกนำมาเลี้ยงที่โรงเพาะฟัก โดยทำแยกปูแสมที่เป็นแม่พันธุ์แต่ละตัวเลี้ยงในกล่องโฟมขนาด 30×50×30 เซนติเมตรที่มีน้ำมีทะเลบรรจุอยู่ 20 ลิตร สำหรับความเค็มที่ใช้เลี้ยงแม่พันธุ์อยู่ที่ระดับ 25-30 PSU. ให้อาหารประเภทอาหารกุ้ง อาหารสด และอาหารเสริม และต้องทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน หลังจากนั้นเฝ้าสังเกตการวางไข่ของแม่ปู

1.4 การอนุบาลลูกปูแสมระยะวัยอ่อน



ภาพที่ 5 การเลี้ยงแม่พันธุ์ปูแสม

โดยทั่วไปแม่ปูจะออกไข่ในช่วงกลางคืนระหว่าง 2 ทุ่มถึงเที่ยงคืน เมื่อปูแสมฟักไข่จะคัดแยกตัวอ่อนโดยใช้สายยางดูดหรือใช้ภาชนะตักขึ้นมา ซึ่งการคัดแยกจะเลือกเอาเฉพาะลูกปูที่แข็งแรงคือตัวที่ว่ายน้ำอยู่ที่ผิวน้ำ ลูกปูระยะวัยอ่อนจะรวบรวมมาไว้ในกล่องโฟมขนาด 30×50×30 เซนติเมตรที่มีน้ำมีทะเลบรรจุอยู่ 20 ลิตร สำหรับความเค็มที่ใช้เลี้ยงลูกปูใช้ระดับความเค็มเดียวกันกับการเลี้ยงแม่พันธุ์ หลังจากนั้นจึงย้ายตัวอ่อนจากกล่องโฟมนำไปเลี้ยงอนุบาลในถังอนุบาลซึ่งเป็นถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร เพื่ออนุบาลลูกปูให้มีชีวิตรอดและพัฒนาจากระยะ Zoea 1 จนถึงระยะ Crab 1 ขณะที่ทำการอนุบาลจะให้อาหารและเปลี่ยนถ่ายน้ำ สำหรับอาหารที่ใช้อนุบาลลูกปูแสมเป็นอาหารที่มีชีวิต เช่น โรติเฟอร์ และ อาร์ทีเมีย หลังจากนั้นลูกปูระยะ Crab 1 จะถูกย้ายไปอนุบาลในบ่อซิเมนต์ เพื่อเลี้ยงเป็นแม่พันธุ์สำหรับการทดลองในลำดับถัดไป

ภาพที่ 6 การเตรียมตัวอ่อนปูแสมเพื่อใช้ในทดลอง

ภาพที่ 7 ตัวอ่อนปูแสม *E. singaporense* ระยะ Megalopa

ภาพที่ 8 ตัวอ่อนปูแสม *E. singaporense* ระยะ Crab 1

1.5 การอนุบาลลูกปูแสมระยะวัยรุ่นเพื่อเป็นแม่พันธุ์

หลังจากอนุบาลจนลูกปูพัฒนาเข้าสู่ระยะ Crab 1 จึงย้ายไปอนุบาลในบ่อซิเมนต์ ขนาด 2.0×4.0×0.8 เมตร ในอัตราความหนาแน่น 1,000 ตัวต่อบ่อ รวมทั้งหมด 2 บ่อ ใส่กิ่งใบสนเป็นวัสดุหลบซ่อน สำหรับอาหารหลักที่ใช้ในการอนุบาลปูวัยอ่อนในระยะ Crab 1 คือ อาหารสด เช่น กุ้งสด สลับกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งทะเล และให้ใบไม้ของพรรณไม้ชายเลน และสาหร่าย *Caulerpa* spp. เป็นอาหารเสริม โดยทำการให้อาหารและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน หลังจากอนุบาลลูกปูแสมระยะวัยรุ่นจนลูกปูมีอายุ 12 สัปดาห์ จึงแยกไปทดลองเลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดกัน กรณีที่ลูกปูแสมที่เตรียมไว้ไม่เพียงพอ อาจจำเป็นต้องรวบรวมลูกปูแสมระยะวัยรุ่นขนาดเดียวกันจากแหล่งธรรมชาติมาใช้ในการทดลอง นอกจากนี้จะบันทึกปริมาณอาหารที่ปูกินหมดเพื่อนำไปใช้ในการเลี้ยงปูในขั้นตอนการทดลองอีกด้วย

1.6 การเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

อาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นอาหารสำเร็จรูปแบบ Microbound diet (MBD) มี 3 สูตร แต่ละสูตรมีระดับไขมันต่างกันคือมีไขมันรวม (total lipid) 8% 10% และ 12% สาเหตที่เลือกระดับไขมันในช่วงดังกล่าว เนื่องจาก Azra and Ikhwanuddin (2016) ได้รวบรวมรายงานการศึกษาอาหารสำหรับเลี้ยงแม่พันธุ์ปูทะเลสกุล *Scylla* และพบว่าอาหารสำเร็จรูปควรมีองค์ประกอบไขมันในช่วง 6% - 12% และอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10 % ทำให้เพิ่มผลผลิตและคุณภาพของตัวอ่อน สำหรับอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ ได้ดัดแปลงจากสูตรอาหารของ Alava *et al.,* (2007) โดยการเตรียมวัตถุดิบทั่วไป (Common ingredients) ในสัดส่วนเป็นกรัมต่อ 100 กรัม จากวัตถุดิบต่างๆ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของวัตถุดิบทั่วไป (Common ingredients)

วัตถุดิบ (Ingredients)	สัดส่วน (g per100 g)
fish meal	25.0
shrimp meal	20.0
squid meal	8.0
bread four	17.5
seaweed *Caulerpa* sp.	5.0
carboxy methyl cellulose	1.0
vitamin mix	3.5
mineral mix	3.5
dicalcium phosphate	1.5

หลังจากนั้นนำวัตถุดิบทั่วไป (Common ingredients) ที่เตรียมไว้มาผสมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไขมันและวัตถุดิบอื่นๆ คือ Squid oil, Soy lecithin และ Rice bran เพื่อให้ได้อาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างๆ ตามสัดส่วนในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สัดส่วนของวัตถุดิบสำหรับอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างๆ

Ingredients (g per100 g)	อาหารสำเร็จรูป (ไขมัน 8%)	อาหารสำเร็จรูป (ไขมัน 10%)	อาหารสำเร็จรูป (ไขมัน 12%)
Squid oil	2.0	3.50	5.00
Soy lecithin	1.00	1.75	2.50
Rice bran	12.00	9.75	7.50
วัตถุดิบทั่วไป (common ingredients)	85.00	85.00	85.00

ภาพที่ 9 วัตถุดิบสำหรับเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

ภาพที่ 10 การเตรียมอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

สำหรับการเตรียมอาหารสำเร็จรูปแบบ Microbound diet (MBD) ที่ใช้ในการทดลองจะดำเนินการตามวิธีของ Holme *et al*. (2007) โดยการผสมวัตถุดิบอาหารส่วนแห้งและส่วนเปียกในภาชนะที่แยกออกจากกัน แล้วจึงนำวัตถุดิบทั้งสองส่วนมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นนำอาหารที่เตรียมดังกล่าวไปเกลี่ยให้กระจายเป็นแผ่นบางๆ ในภาชนะอะลูมิเนียม ก่อนนำไปอบแห้งในตู้อบ (Oven) ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อาหารที่อบแห้งเรียบร้อยแล้วจะถูกนำไปบดในครกให้ละเอียด ซึ่งหลังจากเตรียมอาหารสูตรต่างๆ ที่มีระดับไขมันต่างกันแล้ว จะต้องนำอาหารที่เตรียมไปวิเคราะห์หาระดับไขมัน หลังจากนั้นจึงนำอาหารที่ได้จากการเตรียมไปใช้ในการทดลองต่อไป

2. การวิจัยเกี่ยวกับคุณภาพตัวอ่อนและการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

2.1 การศึกษาการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน แบ่งได้เป็นการศึกษาด้านต่างๆ ดังนี้

2.1.1 ศึกษาอัตราการรอดตายของปูเพศเมียก่อนมีไข่นอกกระดอง (Survival of females before spawning; SFBS) อัตราส่วนของปูที่มีไข่นอกกระดอง (Percentage of female spawned; PFS) และอัตราส่วนความสำเร็จของการฟักไข่ของปูเพศเมีย (Percentage of berried females successfully hatched; PBFSH) ได้ดำเนินการหลังจากอนุบาลลูกปูแสมระยะวัยรุ่นเพื่อเป็นแม่พันธุ์ในข้อ 1.5 จนมีอายุ 12 สัปดาห์ จึงย้ายมาแยกเลี้ยงในถังไฟเบอร์ขนาด 1.0×1.0×0.5 เมตร โดยเลี้ยงลูกปู 30 ตัวต่อถังในอัตราส่วนเพศเมียและเพศผู้เท่ากับ 2:1 และทำการทดลอง 4 ซ้ำ ตามแผนการทดลองดังนี้

ชุดทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารสด เช่น เนื้อกุ้งทะเลสด เนื้อปลาทะเลสด
ชุดทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 8%
ชุดทดลองที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 10%
ชุดทดลองที่ 4 เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 12%

ซึ่งการทดลองเลี้ยงปูแสมด้วยอาหารตามแผนการทดลองข้างต้น โดยทำการเลี้ยง เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ โดยระหว่างเลี้ยงปูจะให้อาหารและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน พร้อมตรวจสอบการตายและแม่ปูที่มีไข่นอกกระดอง เพื่อเก็บข้อมูลการตายของแม่ปูก่อนการมีไข่นอกกระดอง และจำนวนแม่ปูที่มีไข่นอกกระดอง หากตรวจพบปูตายก็จะนำออกจากถังทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์อัตราการรอดตายของปูแสมเพศเมียก่อนมีไข่นอกกระดอง (Survival of females before spawning; SFBS) และอัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสมเพศเมีย (Percentage of female spawned; PFS) ตามเอกสารของ Wu *et al.* (2010) ดังนี้

$$\text{ค่า SFBS} = \frac{100 \times \text{จำนวนปูเพศเมียที่มีชีวิตก่อนมีไข่นอกกระดอง}}{\text{จำนวนปูเพศเมียตอนเริ่มการทดลอง}}$$

$$\text{ค่า PFS} = \frac{100 \times \text{จำนวนปูเพศเมียที่มีไข่นอกกระดอง}}{\text{จำนวนปูเพศเมียที่มีชีวิตรอดทั้งหมด}}$$

สำหรับกรณีที่พบปูแสมมีไข่นอกกระดอง จะบันทึกข้อมูลนำไปแยกเลี้ยงอิสระในกล่องโฟมขนาด 30×50×30 เซนติเมตรที่มีน้ำมีทะเลบรรจุอยู่ 20 ลิตร ทำการให้อาหารและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน จนกว่าไข่จะพัฒนาจนใกล้ฟักเป็นตัว หลังจากนั้นเฝ้าสังเกตการวางไข่ของแม่ปู เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวอ่อน จะทำการบันทึกข้อมูลปูแสมที่มีไข่ฟักออกเป็นตัว เพื่อนำวิเคราะห์อัตราความสำเร็จในการฟักไข่ของปูแสมเพศเมีย (Percentage of berried females successfully hatched; PBFSH) ตามตามเอกสารของ Wu *et al.* (2010) ดังนี้

$$\text{ค่า PBFSH} = 100 \times \frac{\text{จำนวนแม่ปูที่มีไข่นอกกระดองและสามารถฟักไข่เป็นตัวอ่อน}}{\text{จำนวนแม่ปูที่มีไข่นอกกระดองทั้งหมด}}$$

จากนั้นนำข้อมูลอัตราการรอดตายของปูเพศเมียก่อนมีไข่นอกกระดอง (Survival of females before spawning; SFBS) อัตราการมีไข่นอกกระดองของปูเพศเมีย (Percentage of female spawned; PFS) และอัตราความสำเร็จในการฟักไข่ของปูเพศเมีย (Percentage of berried females successfully hatched; PBFSH) ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ไปเปรียบความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA ตามวิธีในเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)

2.1.2 ศึกษาความดกไข่ (Fecundity) ขนาด (Size) ปริมาตร (Volume) และน้ำหนักของไข่ปู (Mass) การฟักไข่ (Egg hatchability) และระยะเวลาการพัฒนาของไข่ (Egg development time) จะดำเนินการหลังจากอนุบาลลูกปูแสมระยะวัยรุ่นเพื่อเป็นแม่พันธุ์ในข้อ 1.5 จนมีอายุ 12 สัปดาห์ จึงย้ายมาแยกเลี้ยงในถังไฟเบอร์ขนาด 1.0×1.0×0.5 เมตร โดยเลี้ยงลูกปู 30 ตัวต่อถังไฟเบอร์ในอัตราส่วนเพศเมียและเพศผู้เท่ากับ 2:1 แยกเลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ตามแผนการทดลองดังนี้

ชุดทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารสด เช่น เนื้อกุ้งทะเลสด เนื้อปลาทะเลสด
ชุดทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 8%
ชุดทดลองที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 10%
ชุดทดลองที่ 4 เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 12%

ซึ่งการทดลองเลี้ยงปูแสมด้วยอาหารตามแผนการทดลองข้างต้น เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ ในระหว่างเลี้ยงปูจะให้อาหารและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน พร้อมตรวจสอบการตายและแม่ปูที่มีไข่นอกกระดอง หากตรวจพบปูตายก็จะนำออกจากถังทดลอง แต่หากพบปูที่มีไข่นอกกระดอง นำไปแยกเลี้ยงอิสระในกล่องโฟมขนาด 30×50×30 เซนติเมตรที่มีน้ำมีทะเลบรรจุอยู่ 20 ลิตร ทำการให้อาหารและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน ในระหว่างเลี้ยงปูจะทำการเก็บข้อมูลดังนี้

-การศึกษาความดกไข่ (Fecundity)

สุ่มปูแสมเพศเมียที่มีไข่นอกกระดอง (ระยะ Gastrulae stage) ที่ได้จากเลี้ยงด้วยอาหารต่างกันในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 5 ตัว นำมาวัดความกว้างกระดอง (Carapace width; CW) ด้วย digital vernier calipers แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักเปียกของปูเพศเมียและน้ำหนักไข่ที่อยู่บริเวณจับปิ้ง ด้วยเครื่องชั่งดิจิทัล 2 ตำแหน่ง จากนั้นใช้กรรไกรตัดส่วนจับปิ้งที่มีไข่นอกกระดองนำมาใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมสารละลายที่ช่วยปูแสมหลุดออกจากจับปิ้งลงในบีกเกอร์ สารละลายดังกล่าวประกอบด้วยส่วนผสมระหว่างน้ำทะเล (25 PSU.) 100 มิลลิลิตรและ Sodium hypochlorite (ความเข้มข้น 7-10 %) 5 มิลลิลิตร หลังจากเติมสารละลายดังกล่าวในบีกเกอร์แล้วทิ้งไว้ประมาณ 3 - 5 นาที เพื่อให้ไข่ปูแสมหลุดออกจากจับปิ้ง (Abdomen) แล้วจึงนำไข่ปูแสมทั้งหมดไปถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูปดิจิทัล และหาจำนวนไข่ปูแสมทั้งหมดด้วยการวิเคราะห์ Analyze Particles ด้วยโปรแกรม ImageJ ซึ่งเป็นโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับประมวลภาพดิจิทัลที่ใช้ในทางการแพทย์และชีววิทยา (Schneider *et al.,* 2012) จากนั้นนำข้อมูลความดกไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันไปเปรียบความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA ตามวิธีในเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)

-การศึกษาขนาด (Size) ปริมาตร (Volume) และน้ำหนักของไข่ปู (Mass)

ทำการสุ่มไข่ปูระยะต่างๆ ระยะละไม่น้อยกว่า 30 ฟอง จากแม่ปูที่มีไข่นอกกระดองที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน นำไปศึกษาขนาด และปริมาตรของไข่ปูแสมภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการวัด Length of larger diameter (LA) และ Length of smaller diameter (SA) เพื่อใช้คำนวณหาค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลาง (Mean diameter) และปริมาตร (Volume) ตามวิธีของ Pinheiro and Hattori (2003) และ García-Guerrero and Hendrickx (2006) ดังนี้

Length of larger diameter (LA) คือค่าของเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนที่กว้างที่สุดของไข่ โดยวัดจากขอบด้านหนึ่งถึงขอบอีกด้านหนึ่งของไข่

Length of smaller diameter (SA) คือค่าของเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนที่แคบที่สุดของไข่ โดยวัดจากขอบด้านหนึ่งถึงขอบอีกด้านหนึ่งของไข่

Mean diameter คือค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของไข่ คำนวณจาก (LA+SA)/2

Volume (V) คือค่าปริมาตรของไข่ สูตรที่ใช้ในการคำนวณ คือ

$$V = 4/3(\P\ r^2R) \text{ โดย } r = SA/2 \text{ และ } R = LA/2$$

สำหรับการหาน้ำหนักเปียกของไข่ปูแต่ละฟอง (Wet weight of individual egg) จะต้องสุ่มตัวอย่างไข่และชั่งน้ำหนักเปียกของไข่ปูแต่ละฟอง (Wet weight of individual egg) ด้วยเครื่องชั่งดิจิทัล 4 ตำแหน่ง ข้อมูลที่ได้จะได้นำไปเปรียบเทียบความแตกต่างของน้ำหนักและขนาดของไข่ปูจากแม่ปูที่มีไข่นอกกระดองที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดกันด้วยสถิติ ANOVA ตามวิธีในเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995) สำหรับไข่ที่เหลือจะถูกนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี (biochemical analysis) ต่อไป

-การศึกษาอัตราการฟักไข่ (Egg hatchability) และระยะเวลาการพัฒนาของไข่ (Egg development time) ดัดแปลงจากวิธีของ Wu *et al.* (2010) โดยนำไข่ปูระยะ blastula stage จากปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 50 ฟอง นำมาใส่ในหลอดทดลองที่เป็นหลอดแก้ว 50 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองอย่างน้อย 5 ซ้ำ สำหรับความเค็มของน้ำทะเลที่ใช้ฟักไข่อยู่ในช่วง 25 PSU. อุณหภูมิ 26-28 °C และให้อากาศในระดับปานกลางเพื่อเพิ่มออกซิเจนและป้องกันไม่ให้ไข่จมลงสู่ก้นหลอดแก้ว หลอดแก้วแต่ละหลอดจะเปลี่ยนถ่ายน้ำ100 % ทุกวัน ในระหว่างทดลองต้องตรวจเช็คการฟักไข่ทุก 12 ชั่วโมงนับตั้งแต่เริ่มการทดลอง บันทึกข้อมูลเมื่อไข่เริ่มฟักออกเป็นตัวอ่อน และตัวอ่อนระยะ zoea 1 ที่แรกฟักจะถูกแยกออกจากหลอดทดลอง การทดลองจะดำเนินการจนกระทั่งไข่ทุกฟองฟักเป็นตัวอ่อนหมดหรือแน่ใจว่าไข่ที่เหลืออยู่เป็นไข่เสีย เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะทราบข้อมูลอัตราการฟักไข่ (Hatching rate) และช่วงเวลาการพัฒนาของไข่ (Egg development duration) ของแม่ปูที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน จากนั้นนำข้อมูลความดกไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ไปเปรียบความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA ตามวิธีในเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)

2.2 การศึกษาคุณภาพตัวอ่อนของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

โดยนำปูแสมเพศเมียที่มีไข่นอกกระดองที่ได้จากเลี้ยงด้วยอาหารต่างกันในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 5 ตัวนำมาแยกเลี้ยงเดี่ยวในกล่องโฟมขนาด 30×50×30 เซนติเมตรที่มีน้ำมีทะเลบรรจุอยู่ 20 ลิตร สำหรับความเค็มที่ใช้เลี้ยงแม่พันธุ์อยู่ที่ระดับ 25-30 PSU. จนกระทั่งตัวอ่อนฟักออกจากไข่ หลังจากนั้นจึงศึกษาคุณภาพของตัวอ่อน โดยใช้วิธีดังนี้

2.2.1 ทดสอบความทนทานด้วยการอดอาหาร (tolerance to starvation tests) ตามวิธีที่ดัดแปลงจากเอกสารของ Wu *et al*. (2010) โดยนำตัวอ่อนระยะ zoea 1 แรกฟักที่ได้จากปูแสมเพศเมียที่มีไข่นอกกระดองที่ได้จากเลี้ยงด้วยอาหารต่างกันในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 30 ตัว นำมาใส่ในภาชนะ ขนาด 300 มิลลิลิตร (3 ซ้ำ) ที่มีน้ำทะเลความเค็มเท่ากับ 25 PSU. และไม่ให้อาหารแก่ตัวอ่อน หลังจากนั้นทำการตรวจสอบการตายของตัวอ่อนปูแสมทุก 12 ชั่วโมง หากพบการตาย ต้องนำตัวอ่อนที่ตายออกจากบีกเกอร์ทันที ระหว่างการทดสอบต้องเปลี่ยนน้ำในแต่

ละบีกเกอร์ทุกวันในอัตรา 50% และทำการทดสอบจนกระทั่งตัวอ่อนปูแสมตายหมด นำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอด (Average survival time) สมการ

Average survival time (days) = $(0.5 \times N_{0.5} + 1 \times N_1 + 1.5 \times N_{1.5} + 2 \times N_2 \ldots + T \times NT)/ 30$

โดย $N_{0.5}$, N_1, $N_{1.5}$, N ....คือจำนวนตัวอ่อนที่ตายขณะตรวจพบในช่วง 12 ชั่วโมง หลังจากเวลาผ่านไป 0.5, 1, 1.5, 2..... วันตามลำดับ นำข้อมูลค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอด (Average survival time) ของตัวอ่อนปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ไปเปรียบความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA ตามวิธีในเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)

ภาพที่ 11 ทดสอบความทนทานด้วยการอดอาหาร

2.2.2 ศึกษาการรอดตาย (Survival) และเวลาพัฒนาการ (Development time) ของตัวอ่อนระยะ Zoea 1 ที่เติบโตพัฒนาสู่ระยะ Zoea 2 ตามวิธีที่ดัดแปลงจากเอกสารของ Wu *et al.* (2010) โดยตัวอ่อนระยะ zoea 1 แรกฟักที่ได้จากปูแสมเพศเมียที่มีไข่นอกกระดองที่ได้จากเลี้ยงด้วยอาหารต่างกันในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 30 ตัว นำมาอนุบาลถ้วยพลาสติกขนาด 1 ลิตรที่วางบนแผ่นพลาสติกที่เจาะรูทำเป็นทุ่นลอย และนำไปลอยในถังไฟเบอร์ (3 ซ้ำ) น้ำทะเลที่ใช้อนุบาลมีการควบคุมให้มีความเค็มและอุณหภูมิเท่ากับ 25 PSU. และ 27 °C ขณะที่ทำการอนุบาลจะให้อาหารเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวันในอัตรา 50% และให้อากาศในระดับปานกลาง สำหรับอาหารที่ให้วันละครั้งเป็นอาหารที่มีชีวิต คือ โรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย สำหรับความหนาแน่นของโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย ให้ในอัตราโรติเฟอร์:อาร์ทีเมีย เท่ากับ 10:2 ต่อตัวอ่อนปูแสม 1 ตัว ทำการตรวจเช็คการตายและการลอกคราบของตัวอ่อนปูแสม12 ชั่วโมง ตัวอ่อนปูแสมที่ตายหรือลอกคราบเป็นระยะ Zoea 2 จะต้องถูกนำออก การศึกษาการรอดตาย และเวลาพัฒนาการจะดำเนินการอย่างต่อเนื่องจนสิ้นสุดเมื่อตัวอ่อนระยะ Zoea 1 ลอกคราบเป็นตัวอ่อนระยะ Zoea 2 นำข้อมูลการรอดตายและเวลาพัฒนาการของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ไปเปรียบความแตกต่างด้วยสถิติ ANOVA ตามวิธีในเอกสารของ Sokal and Rohlf (1995)

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี (biochemical analysis) ของไข่ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างไข่ที่ได้จากปูแสมเพศเมียที่มีไข่นอกกระดองที่ได้จากเลี้ยงด้วยอาหารต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี ได้แก่ Fatty acid เป็นต้น (Alava *et al*. 2007; Wu *et al.* 2010)

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การศึกษาการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

1.1 อัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดอง (Survival of females before spawning; SFBS) ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

จากการศึกษาการรอดตายของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสดและอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมันต่างกัน พบอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดอง (Survival of females before spawning; SFBS) ของปูแสมเพศอยู่ในช่วงร้อยละ 43.75-45.00 (ตารางที่ 3) และปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10% และ 12% มีอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองสูงสุด (45.00%) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

ตารางที่ 3 อัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

รูปแบบอาหาร	อัตรารอดตายก่อนมีไข่นอกกระดอง (%)
อาหารสด	47.50 ± 8.66^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	43.75 ± 8.54^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	45.00 ± 10.80^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	45.00 ± 15.81^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสามารถใช้อาหารสดและอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8-12% ในการเลี้ยงปูแสม *E. Singaporense* มีไข่นอกกระดองได้เช่นเดียวกับรายงานวิจัยอื่นที่พบว่าปูเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสดและอาหารสำเร็จรูปสามารถสร้างไข่นอกกระดองได้ (Millamena and Quinitio 2000; Millamena and Bangcaya, 2001; Djunaidah *et al.,* 2003; Alava *et al*., 2007; Azra and Ikhwanuddin, 2016) โดยการทดลองครั้งนี้พบอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดและอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8% - 12% อยู่ในช่วง 43.75-45.00 % โดยปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดและอาหารสำเร็จรูปมีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน แต่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดมีแนวโน้มรอดตายสูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป สำหรับความแตกต่างของรูปแบบอาหารที่มีผลต่อการตายของปูที่เลี้ยงในโรงเพาะฟัก มีปรากฏในรายงานต่าง ๆ เช่น ผลการวิจัยของ Wu *et al.* (2010) ซึ่งได้ศึกษาประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของปู *Portunus trituberculatus* ที่เลี้ยงในโรงเพาะฟักโดย ให้อาหารสดคือเนื้อหอย *Sinonovacula constricta* เป็นอาหาร และพบอัตราการ

รอดตายสูง เช่นเดียวกับรายงานของ ชาญยุทธ และคณะ (2559) ที่พบปูแสมชนิดนี้ที่เลี้ยงในโรงเพาะฟักด้วยอาหารสดมีมีอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองมากกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Millamena and Quinitio (2000) ที่ทดลองเลี้ยงปูทะเล *Scylla serrata* เพศเมียให้มีไข่นอกกระดองด้วยอาหารต่างกัน คือ อาหารสด อาหารสำเร็จรูป และอาหารสดร่วมกับอาหารสำเร็จรูป และพบอัตราอดตายของปูทะเล *Scylla serrata* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสดและอาหารสดร่วมกับอาหารสำเร็จรูปมีอัตราอดตายสูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปอย่างเดียว

สำหรับอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่ศึกษาในครั้งนี้แตกต่างกับอัตราการรอดตายของการเลี้ยงปูแสมและปูชนิดอื่นๆ ดังตารางที่ 4 ซึ่งความแตกต่างของอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองของปูชนิดต่างๆ อาจเกิดจากความแตกต่างของแหล่งแม่พันธุ์ ความแตกต่างทางชีววิทยาของปูต่างชนิดกัน ขนาดของปูที่เลี้ยง รูปแบบของอาหาร ระยะเวลาการเลี้ยง และรูปแบบการเลี้ยง ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ใช้ปูแสมขนาดเล็กมาเลี้ยงในที่กักขัง ต้องใช้เวลาในการเลี้ยงนานเพื่อให้มีไข่นอกกระดอง จึงมีอัตราการตายของปูแสมสูงกว่าเมื่อเทียบการการศึกษาอื่นที่ใช้ปูที่มีขนาดใหญ่ ทำให้ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงให้มีไข่นอกกระดองสั้นกว่า จึงมีโอกาสเกิดการตายของปูที่เลี้ยงน้อยกว่า โดยเฉพาะการตายที่เกิดจากการกินกันเอง ที่มักเกิดเมื่อปูมีการลอกคราบ จะถูกกินโดยปูตัวอื่น

ตารางที่ 4 อัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ

ชนิดของปู	อัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดอง (%)	แหล่งอ้างอิง
กลุ่มปูชนิดอื่นๆ		
Scylla serrata	55-58	Millamena and Bangcaya (2001)
Portunus trituberculatus	92.9--100.0	Wu *et al.* (2010)
P. trituberculatus	74.3-87.1	Wu *et al.* (2010)
กลุ่มปูแสม		
Episesarma singaporense	90.0-100.0	ชาญยุทธ และคณะ (2559)
E. singaporense	43.75-45.00	การศึกษาครั้งนี้

1.2 อัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสมเพศเมีย (Percentage of female spawned; PFS) ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

สำหรับการศึกษาอัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบอัตราการมีไข่นอกกระดองอยู่ในช่วง 36.25-40.00% (ตารางที่ 5) ซึ่งปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปมีที่มีไขมัน 10% มีอัตราการมีไข่นอกกระดองสูงสุด (40.00±7.07%) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างารมีไข่นอกกระดองของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

ตารางที่ 5 อัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ

รูปแบบอาหาร	อัตราส่วนของปูแสมเพศเมีย ที่มีไข่นอกกระดอง (%)
อาหารสด	37.50 ± 6.45^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	36.25 ± 7.5^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	40.00 ± 7.07^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	37.50 ± 9.57^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

การศึกษาครั้งนี้พบอัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงในโรงเพาะฟักในช่วง 36.25-40.00% และแตกต่างจากการศึกษาของ ชาญยุทธ และคณะ (2559) ที่รายงานอัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสมชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในโรงเพาะฟัก พบในช่วง 47.6-76.7% สาเหตุที่พบอัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงในโรงเพาะฟักแตกต่างกัน อาจขึ้นกับแหล่งแม่พันธุ์ ขนาดแม่พันธุ์ ความแตกต่างของชนิดอาหาร ระยะเวลาการเลี้ยงและรูปแบบการเลี้ยง ตลอดจนปัจจัยแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น ความเค็ม ซึ่งจากการศึกษาของมูฮัมหมาด (2558) ที่เลี้ยงปูแสม *E. singaporense* ขนาดต่างกัน (ความกว้างกระดอง 1.5-3.0 cm.) ที่ระดับความเค็ม 0-35 ppt. ด้วยอาหารสดและอาหารสำเร็จรูป พบอัตราส่วนของปูที่มีไข่นอกกระดองในช่วง 8.3- 66.7 % โดยปูแสมที่มีขนาดความกว้างกระดอง 2.5-3.0 cm. และเลี้ยงที่ระดับความเค็ม 25 ppt. มีอัตราส่วนการที่มีไข่นอกกระดองสูงสุด (66.7%)

จากการเปรียบเทียบอัตราส่วนร้อยละของการมีไข่นอกกระดองของปูแสม *E. Singaporense* กับปูชนิดอื่น (ตารางที่ 6) เช่น ปู *Portunus trituberculatus* (Wu *et al.*, 2010) พบว่าอัตราการสร้างไข่นอกกระดองของปูแสมชนิดนี้ต่ำกว่า (36.25-40.00%) เมื่อเทียบกับอัตราการมีไข่นอกกระดองของปู *Portunus trituberculatus* (89.4-90.8) หรือการวิจัยของ Djunaidah *et al.* (2003) ที่พบอัตราการมีไข่นอกกระดองของปูทะเล *Scylla paramamosain* เท่ากับ 100% เมื่อเลี้ยงปูทะเล *Scylla paramamosain* ด้วยอาหารต่างๆ (อาหารสดและอาหารสำเร็จรูป) สำหรับสาเหตุที่อัตราการสร้างไข่นอกกระดองของปูชนิดอื่นสูงกว่า เป็นเพราะความแตกต่างทางชีววิทยาระหว่างปู

ต่างชนิดกัน นอกจากนี้ปูชนิดอื่นๆ ที่ปรากฏในรายงานการศึกษาประสิทธิภาพการสืบพันธุ์เป็นปูเพศเมียตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์เพศ (Fully matured females) จึงมีอัตราการสร้างไข่นอกกระดองสูง เพราะใช้พลังงานจากอาหารเพื่อการเติบโตน้อยกว่าปูวัยรุ่นที่ต้องจัดสรรพลังงานบางส่วนเพื่อใช้ในการเติบโตและสร้างไข่ ดังรายงานของ มูฮัมหมาด (2558) ที่พบว่าปูแสม *E. singaporense* ที่มีความกว้างกระดอง 2.0-2.4 เซนติเมตรมีการสร้างไข่นอกกระดองน้อยกว่าปูแสมขนาดโตกว่าที่มีความกว้างกระดอง 2.5-3.0 เซนติเมตร ซึ่งการทดลองครั้งนี้เป็นการเลี้ยงปูแสมเล็ก (2.0 เซนติเมตร) ให้มีไข่นอกกระดอง ปูแสมวัขนาดดังกล่าวจึงทำให้ต้องนำพลังงานบางส่วนไปใช้ในการเติบโต ทำให้เหลือพลังงานในการสร้างไข่น้อยกว่า จึงพบอัตราการมีไข่นอกกระดองต่ำกว่า

ตารางที่ 6 อัตราการมีไข่นอกกระดองของปูชนิดต่างๆ

ชนิดของปู	อัตราการมีไข่นอกกระดอง (%)	แหล่งอ้างอิง
กลุ่มปูอื่นๆ		
Scylla paramamosain	100	Djunaidah *et al.* (2003)
Portunus trituberculatus	89.4-90.8	Wu *et al.* (2010)
กลุ่มปูแสม		
Episesarma singaporense	8.3-66.7	มูฮัมหมาด (2558)
E. Singaporense	47.6-76.7	ชาญยุทธ และคณะ (2559)
E. singaporense	36.25-40.00	การศึกษาครั้งนี้

การศึกษาครั้งนี้พบปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปมีแนวโน้มการมีไข่นอกกระดองสูงกว่าปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ชาญยุทธ และคณะ (2559) เช่นกัน เนื่องจากอาหารสำเร็จรูปมีองค์ประกอบของสารอาหาร เช่น โปรตีนรูปแบบต่างๆ (Millamena and Quinitio, 2000; Millamena and Bangcaya, 2001) ไขมันและกรดอะมิโนที่จำเป็นต่างๆ (Djunaidah et al., 2003; Alava et al., 2007) ซึ่งสำคัญต่อความสมบูรณ์ของรังไข่ปู (Ovarian maturation) รูปร่างของไข่ (Egg morphology) อัตราการฟักไข่ (Hatching rate) และมีสารอาหารที่ใช้ในการสังเคราะห์ ไวเทลโลจีนิน (Vitellogenin synthesis) ที่เกี่ยวข้องกับการสะสมไข่แดง (yolk) เช่น กรดอะมิโน (Amino acids) วิตะมิน (Vitamins) และกรดไขมันที่จำเป็น (Essential fatty acids) (Azra and Ikhwanuddin, 2016) ดังนั้นอัตราส่วนของการมีไข่นอกกระดองของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสดที่มีแนวโน้มต่ำกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป จึงอาจเกิดจากอาหารสดอาจมีสารอาหารไม่ครบถ้วนเท่ากับอาหารสำเร็จรูป ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Millamena and Quinitio (2000) พบว่าการขาดกรดไขมันที่จำเป็น (Essential fatty acids) ในอาหารธรรมชาติทำให้ปูทะเลเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารธรรมชาติมีประสิทธิภาพการสืบพันธุ์น้อยกว่าเมื่อ

เทียบกับประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของปูทะเลเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปหรือการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปร่วมกับอาหารสด

1.3 อัตราความสำเร็จในการฟักไข่ของปูแสมเพศเมีย (Percentage of berried females successfully hatched; PBFSH) ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

จากการศึกษาพบอัตราความสำเร็จในการฟักไข่ (Percentage of berried females successfully hatched; PBFSH) ระหว่างปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันอยู่ในช่วง 16.42-28.82% (ตารางที่ 7) ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปมีที่มีไขมัน 10% มีอัตราความสำเร็จในการฟักไข่สูงสุด (28.82±7.81%) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างอัตราความสำเร็จในการฟักไข่ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน และเมื่อเทียบอัตราความสำเร็จในการฟักไข่กับปูชนิดอื่น เช่น ปู *Portunus trituberculatus* (Wu *et al.* 2010) พบปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันมีอัตราความสำเร็จในการฟักไข่น้อยกว่า ทั้งนี้อาจเกิดจากปัจจัยของชนิดและขนาดของปู รูปแบบของอาหาร และระบบการเลี้ยงที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 7 อัตราความสำเร็จในการฟักไข่ระหว่างปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

รูปแบบอาหาร	อัตราส่วนความสำเร็จในการฟักไข่ (%)
อาหารสด	16.42 ± 4.23^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	24.31 ± 6.94^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	28.82 ± 7.81^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	20.63 ± 9.01^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

1.4 ความดกไข่ (Fecundity) ของปูแสมเพศเมีย *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

ส่วนการศึกษาความดกไข่ (Fecundity) ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่าง ๆ พบในช่วง 22,647-27,247 ฟอง (ตารางที่ 8) โดยปูเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10% มีความดกไข่สูงสุด (27,247 ฟอง) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างความดกไข่ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

ตารางที่ 8 ความดกไข่ (Fecundity) ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่าง ๆ

รูปแบบอาหาร	ความดกไข่ (ฟอง)
อาหารสด	22,647±3,786^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	26,643±5,744^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	27,247±4,983^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	25,700±6,414^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ความดกไข่ (Fecundity) ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่าง ๆ ที่ได้จากศึกษาในครั้งนี้พบในช่วง 22,647-27,247 ฟอง ใกล้เคียงกับรายงานวิจัยของชาญยุทธ และคณะ (2559) ที่เลี้ยงปูแสมชนิดนี้ในโรงเพาะฟักด้วยอาหารสดและอาหารสำเร็จรูปที่พบความดกไข่ของปูแสมชนิดนี้ในช่วง 23,612.2-31,278.2 ฟอง ความดกไข่ของปูแสมที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ใกล้เคียงกับความดกไข่ของปูแสม *E. singaporense* ที่สุ่มจับจากป่าชายเลนในจังหวัดตรังและพบความดกไข่เฉลี่ยเท่ากับ 25,191±10,121 ฟอง (สริณา และคณะ, 2557) นอกจากนี้ความดกไข่ของปูแสมที่เลี้ยงในโรงเพาะฟักในครั้งนี้ยังอยู่ในช่วงความดกไข่ของปูแสมชนิดนี้ (26,626±10,916 ฟอง) ที่ได้จากการศึกษาความดกไข่จากประชากรปูแสมในแหล่งธรรมชาติ (ชาญยุทธ และวัฒนา, 2562) ซึ่งการพบความดกไข่ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงในโรงเพาะฟักใกล้เคียงกับความดกไข่ของปูแสมที่อาศัยในแหล่งอาศัยธรรมชาติบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการสืบพันธุ์และความเป็นไปได้ในการใช้อาหารสดและอาหารสำเร็จรูปในการเลี้ยงปูแสมเป็นแม่พันธุ์ปูแสมจากโรงเพาะฟัก เพื่อลดการใช้แม่พันธุ์ที่จับจากธรรมชาติ ส่วนแนวโน้มการพบความดกไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดมีแนวโน้มต่ำปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%-12% สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา เช่นการศึกษาของ Millamena and Quinitio (2000) และ Millamena and Bangcaya (2001) ที่รายงานการเลี้ยงปูทะเล *Scylla serrata* ด้วยอาหารสดทำให้มีความดกไข่ต่ำกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอิทธิพลของไขมันในอาหาร ดังการศึกษาระดับของ Phospholipids (PL) ในอาหารสำเร็จรูปต่อการพัฒนาของรังไข่และประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของปูชนิด *Eriocheir sinensis* (Sui *et al.* 2009) ที่พบแม่พันธุ์ปูชนิดดังกล่าวที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับ Phospholipids 3.6% มีความดกไข่มากกว่าแม่พันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับ Phospholipids 0% และ 1.2% อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีรายงาน

เกี่ยวกับบทบาทไขมัน โดยเฉพาะกรดไขมัน HUFA ชนิด 20:5n-3 (EPA) กับความดกไข่ (Wen *et al.* 2002) โดยอาหารสำเร็จรูปที่กรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5n3) มากกว่า 8.3% ทำให้ความดกไข่ของปู *Eriocheir sinensis* สูงใกล้เคียงกับแม่พันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารสดที่มี HUFA สูง โดยกล่าวถึงบทบาทสำคัญของกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (EPA; 20:5n-3) ในกระบวนการพัฒนาของรังไข่ (Ovarian development process) ที่มีผลต่อการสร้างไข่และความดกไข่ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์กรดไขมันของไข่ปูแสมชนิดนี้ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันที่พบไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%-10% มีกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (EPA; 20:5n-3) มากกว่าไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสด ส่วนความดกไข่ของปูแสม *E. singaporense* ที่ศึกษาครั้งนี้แตกต่างจากความดกไข่ของปูชนิดอื่นๆ ดังที่ได้แสดงในตารางที่ 9 และตารางที่ 10 อาจเกิดจากที่ปูแต่ละชนิดมีความสามารถในการผสมพันธุ์วางไข่ที่แตกต่างกัน (Hamasaki *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อความดกไข่เช่นกัน ได้แก่ ขนาดของไข่ ซึ่งปูที่มีไข่ขนาดใหญ่มักพบมีความดกไข่น้อยกว่าปูที่มีไข่ขนาดเล็ก (Figueiredo *et al.*, 2008) ส่วนปัจจัยอื่นๆ ที่มีอิทธิพลทำให้ความดกไข่ของปูแต่ละชนิดต่างกัน เช่น แหล่งอาศัย และการปรับตัวให้เข้ากับแหล่งอาศัย ปูแสมมีการปรับตัวขึ้นไปอาศัยอยู่บนบก บริเวณตอนบนของเขตน้ำขึ้นน้ำลง มักจะมีความดกไข่น้อย แต่ไข่ขนาดใหญ่กว่าเมื่อเทียบกับปูอื่นๆ กลุ่ม Swimming crab ซึ่งได้แก่ พวกปูม้าและปูทะเล ที่อาศัยอยู่บริเวณตอนล่างของเขตชายฝั่ง เช่น ปูม้า *Portunus pelagicus* ที่มีความดกไข่เฉลี่ย 105,443±35,448 ฟอง (Ikwanuddin et al. 2012) และมีระยะเวลาพัฒนาการขณะเป็นตัวอ่อนนาน จึงการผลิตไข่จำนวนมากเพื่อเพิ่มอัตราการรอดของตัวอ่อน และยังมีปัจจัยด้านความแตกต่างของฤดูกาลที่สัมพันธ์กับอาหารของปู การวางไข่ที่เกิดหลายครั้งในรอบปี อาหารของตัวอ่อน ตลอดจนปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ที่มีผลต่อความดกไข่ เช่น แสง ความเค็ม อุณหภูมิ ปรสิต ผู้ล่า เป็นต้น (Hines, 1982; Castiglioni and Santos, 2001; César *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2006) ดังนั้นความแตกต่างของความดกไข่ระหว่างปูชนิดตาางๆ จึงพบได้ทั่วไปในกลุ่มปูชนิดต่างๆ (Arshad *et a*l., 2006)

ตารางที่ 9 ความดกไข่ของปูชนิดต่างๆ จากประชากรปูในแหล่งอาศัยธรรมชาติ

ชนิดของปู	ความดกไข่ (ฟอง)	แหล่งอ้างอิง
กลุ่มปูอื่นๆ		
Uca uruguayensis	1883±490	Costa *et al.* (2006)
Paralihodes platypus	62,955 ± 4,981.2	Herter *et al.* (2011)
Carcinoplax vestita	7,300-63,000	Doi *et al.* (2007)
Portunus sanguinolentus	663,000 ± 283,000	Rasheed and Mustaquim (2010)
Portunus pelagicus	105,443±35,448	Ikwanuddin et al. (2012)
กลุ่มปูแสม		
Sesarma rectum	9,882±3,262	Leme (2004)
Armases rubripes	4,458 ± 2,739	Lima *et al.* (2006)
Sesarma rectum	7840.6± 2619.121	da Silva *et al.* (2007)
Armases cinereum	12,000- 2,000	Figueiredo *et al.* ((2008
Sesarma rectum	14,975 ± 5,689.5	Ribeiro *et al.* (2012)
Episesarma singaporense	25,191±10,121	สริณา และคณะ (2557)
E. Singaporense	26,626±10,916	ชาญยุทธ และวัฒนา (2562)

ตารางที่ 10 ความดกไข่ของปูชนิดต่างๆ ที่ได้จากการเลี้ยงแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟัก

ชนิดของปู	ความดกไข่ (ฟอง)	แหล่งอ้างอิง
กลุ่มปูอื่นๆ		
Scylla paramamosain	705,000- 1,598,000	Yin and Kian (2017)
Portunus trituberculatus		Wu *et al.* (2010)
กลุ่มปูแสม		
Episesarma Singaporense	26,626±10,916	ชาญยุทธ และวัฒนา (2562)
E. singaporense	22,647-27,247	การศึกษาครั้งนี้

1.5 ขนาด (Size) ปริมาตร (Volume) และน้ำหนัก (Mass) ของไข่ปูแสม *E. singaporense* เลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกัน

การศึกษาขนาดของไข่ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกัน พบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ปูแสมอยู่ในช่วง 311.05-313.64 ไมโครเมตร และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

รูปแบบอาหาร	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไข่ปู (ไมโครเมตร)
อาหารสด	311.33 ± 4.24^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	311.05 ± 6.40^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	313.64 ± 5.56^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	313.72 ± 5.50^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ส่วนปริมาตรของไข่ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน อยู่ในช่วง 15.03×10^6 - 15.24×10^6 ลูกบาศก์ไมโครเมตร และพบปริมาตรของไข่ปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ปริมาตรของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

รูปแบบอาหาร	ปริมาตรของไข่ปู ($\times10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร)
อาหารสด	15.03 ± 1.52^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	15.15 ± 1.11^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	15.21 ± 0.78^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	15.24 ± 1.53^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ขนาดของไข่ปูเป็นการปรับตัวด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ (Hamasaki *et al.*, 2006) กรณีที่ปูเพศเมียสะสมพลังงานเพื่อสร้างไข่ขนาดเล็ก จำนวนมาก แต่ปูที่มีไข่ขนาดเล็กจะมีการสูญเสียของไข่ในขณะวางไข่และการฟักไข่ หรือกรณีที่ปูเพศเมียสะสมพลังงานเพื่อสร้างไข่ขนาดใหญ่ แต่มีจำนวนน้อยในรูปแบบนี้การสูญเสียของไข่จะน้อยกว่ารูปแบบอื่นๆ ขนาดของไข่บ่งชี้ถึงพลังงานที่เป็น

ประโยชน์กับตัวอ่อน ไข่ที่ขนาดใหญ่จะมีไข่แดงมาก ทำให้ตัวอ่อนแรกฟักมีไข่แดงที่เป็นพลังงานมาก ซึ่งเมื่อเทียบกับขนาดและปริมาตรของไข่ปูแสมชนิดอื่น ไข่ของปูแสมชนิดนี้มีขนาดค่อนข้างเล็ก และการเลี้ยงปูแสมด้วยอาหารต่างกันครั้งนี้ไม่มีผลต่อขนาดของไข่ปูแสมชนิดนี้ ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาปริมาณของไขมันต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของปูขน *Eriocheir sinensis* และไม่พบความแตกต่างระหว่างขนาดของไข่ปูขนที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปริมาณไขมันแตกต่างกัน (Sui *et al.* 2009)

สำหรับการศึกษาน้ำหนักของไข่ปูแสมจากปูแสมเพศเมีย *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบน้ำหนักของไข่ปูแสมอยู่ในช่วง 0.000046-0.000060 กรัม และพบน้ำหนักของไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 8-12% มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับน้ำหนักของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสด (ตารางที่ 13) อาจแสดงปริมาณสารอาหารที่สะสมในไข่ปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีการสะสมสารอาหารและไข่แดง (yolk) มากกว่าไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสด

ตารางที่ 13 น้ำหนักของไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกัน

รูปแบบอาหาร	น้ำหนักของไข่ปูแสม (กรัม)
อาหารสด	0.000046±0.00001[b]
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	0.000054±0.00001[a]
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	0.000058±0.00001[a]
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	0.000060±0.00001a[a]

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

1.6 อัตราการฟักไข่ (Egg hatchability) และระยะเวลาการพัฒนาของไข่ (Egg development time) ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

จากการศึกษาอัตราการฟักไข่ (Egg hatchability) ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบอัตราการฟักไข่ในช่วงร้อยละ 61.80-69.00 แต่อัตราการฟักไข่ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 อัตราการฟักไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

รูปแบบอาหาร	อัตราการฟักไข่ (%)
อาหารสด	61.80±8.56^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	64.80±11.99^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	69.00±10.49^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	62.20±9.31^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

อัตราการฟักไข่ของปูต่างๆ (ตารางที่ 15) อาจแตกต่างกันขึ้นกับกับชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูชนิดต่าง และปัจจัยที่เกี่ยวข้อง สำหรับอัตราการฟักไข่ของปูแสมอาจพบในช่วงกว้างขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น การศึกษาของ มูฮัมหมาด (2558) รายงานอัตราการฟักไข่ของปูแสม *E. singaporense* ขนาดต่างๆ ที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่างกัน พบในช่วง 31.9- 90.9 %

ตารางที่ 15 อัตราการฟักไข่ของปูชนิดต่างๆ ที่ได้จากการเลี้ยงแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟัก

ชนิดของปู	อัตราการฟักไข่ (%)	แหล่งอ้างอิง
กลุ่มปูชนิดอื่นๆ		
Scylla paramamosain	89.2- 95.3	Djunaidah *et al.* (2003)
Scylla tranquebarica	28.30 -98.82	Yin and Kian (2017)
Eriocheir sinensis	93.19- 96.17	Wu *et al.* (2009)
กลุ่มปูแสม		
E. singaporense	31.9- 90.9	มูฮัมหมาด (2558)
E. singaporense	61.8-69.0	การศึกษาครั้งนี้

นอกจากนี้พบว่าอาหารที่แตกต่างกันมีผลต่ออัตราการฟักไข่ เช่นกรดไขมันในอาหาร ซึ่งความแตกต่างของอัตราการฟักไข่ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันอาจเกิดจากความแตกต่างของระดับกรดไขมัน จากรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีไข่ของครัสเตเชียนหลายชนิดที่มีกรดไขมันกลุ่ม HUFA หรือ DHA สูงมักมีแนวโน้มที่มีอัตราการฟักสูง (Cahu *et al.*, 1995; Cavalli *et al.*, 1999; Wen *et al.*, 2002) โดยกรดไขมันกลุ่ม n-3 HUFA ที่แตกต่างกันในอาหารที่ใช้เลี้ยงแม่พันธุ์ปู มีผลต่ออัตราการฟักไข่ (Djunaidah *et al.* 2003) เช่นเดียวกับรายงานของ Millamena (1989) ที่กล่าวถึงกรดไขมันกลุ่ม n-3 HUFA มีบทบาทเพิ่มอัตราฟักไข่ของกุ้งกุลาดำ

Penaeus monodon จากการวิเคราะห์ค่ากรดไขมันของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันในครั้งนี้ พบกรดไขมันกลุ่ม n-3 HUFA ของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดมีแนวโน้มต่ำกว่าเมื่อเทียบกับไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%-12% (ตารางที่ 16) ดังนั้นอัตราการฟักไข่ที่แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากกรดไขมันกลุ่ม n-3 HUFA ที่แตกต่างกันระหว่างอาหารที่ใช้เลี้ยงปูแสม เช่นเดียวการศึกษาของ Yin and Kian (2017) ที่พบปูทะเล *Scylla tranquebarica* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่ไม่ได้เสริมกรดไขมัน Docosahexaenoic acid (DHA; C22:6n3) มีอัตราการฟักไข่ต่ำ (28.30%) เมื่อเทียบกับอัตราการฟักไข่ของแม่พันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่เสริมกรด Docosahexaenoic acid (DHA) ที่พบอัตราการฟักไข่สูง (98.82%) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Wen *et al.* 2002 กล่าวถึงบทบาทของกรดไขมัน Docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) กับอัตราการฟักไข่ โดยพบว่าอาหารสำเร็จรูปที่มีกรดไขมัน Docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) มากกว่า 12.8% ทำให้อัตราการฟักไข่ของปูขน *Eriocheir sinensis* สูง เนื่องจากกรดไขมัน (DHA; 22:6n-3) ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการพัฒนาของตัวอ่อน (embryogenesis) ของครัสเตเชียน และเกี่ยวข้องส่งผลต่ออัตราการฟักไข่ (egg hatchability) จากที่กล่าวมาข้างต้นการพบไข่ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปมีกรดไขมัน Docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) สูงกว่าจึงมีแนวโน้มพบอัตราการฟักไข่สูงกว่าอัตราการฟักไข่ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสดที่มีกรดไขมัน Docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) ต่ำกว่า

ตารางที่16 กรดไขมันกลุ่ม n-3 HUFA ที่พบในไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ

	ปริมาณกรดไขมันในไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ (mg/100g)			
	อาหารสด	อาหารสำเร็จรูป (ไขมัน 8%)	อาหารสำเร็จรูป (ไขมัน 10%)	อาหารสำเร็จรูป (ไขมัน 12%)
n-3 HUFA				
Alpha Unolenic Acid (C18:3n3)	1445.275	1499.89	1546.07	1546.093
Eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5n3)	244.54	261.13	273.6	258.3475
Docosahexaenoic acid (DHA; C22:6n3)	137.5	141.125	152.155	143.65
Total	1827.315	1902.145	1971.825	1948.091

จากการศึกษาระยะเวลาการพัฒนาของไข่ปูแสมเพศเมีย *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมันต่างกัน พบระยะเวลาการพัฒนาของไข่อยู่ในช่วง 22.80-24.20 วัน แต่ระยะเวลาการพัฒนาของไข่ปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 17) เช่นเดียวกับการศึกษาอื่นๆ เช่น Djunaidah *et al.* (2003)

รายงานการเลี้ยงแม่พันธุ์ปูทะเลด้วยอาหารสดและอาหารสำเร็จรูป แต่ระยะเวลาการพัฒนาของไข่ปูทะเล (*S. paramamosain*) ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 17 ระยะเวลาการพัฒนาของไข่ (วัน) ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

รูปแบบอาหาร	ระยะเวลาการพัฒนาของไข่ (วัน)
อาหารสด	24.20±1.92^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	23.40±2.07^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	22.80±2.17^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	23.20±2.49^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

2. การศึกษาคุณภาพตัวอ่อนของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

2.1 ความทนทานด้วยการอดอาหาร (Tolerance to starvation) ของตัวอ่อนปูแสมระยะ Zoea 1 ที่ได้จากแม่พันธุ์ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

จากการนำข้อมูลค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอด (Average survival time) ของความทนทานการอดอาหาร (Tolerance to starvation) ของตัวอ่อนปูแสมระยะ Zoea 1 ที่ได้จากปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอดอยู่ในช่วง 3.02-3.82 วัน (ตารางที่ 18) โดยพบค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมัน 10% และ 12% มีค่าสูงสุดคือ 3.78±0.10 และ 3.82±0.17 วัน ตามลำดับ และแตกต่างกับค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมัน 8% และเลี้ยงด้วยอาหารสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) นอกจากนี้พบตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากแม่พันธุ์ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดมีความทนทานต่อการอดอาหารต่ำสุด (ค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอด (3.02±0.09 วัน)

ตารางที่ 18 ความทนทานการอดอาหารของตัวอ่อนปูแสมระยะ Zoea 1ที่ได้จากแม่พันธุ์ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกัน

รูปแบบอาหาร	ค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอด (วัน)
อาหารสด	3.02 ± 0.09^{c}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	3.42 ± 0.17^{b}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	3.78 ± 0.10^{a}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	3.82 ± 0.17^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ความทนทานด้วยการอดอาหาร (Tolerance to starvation) ของตัวอ่อนปูแสมที่แตกต่างกันอาจเป็นผลจากความแตกต่างของไขมันในอาหารที่แตกต่างกัน เนื่องจากตัวอ่อนปูแสมของแม่พันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมัน 10%-12% สามารถมีชีวิตรอดในสภาพขาดอาหารได้นานกว่าตัวอ่อนปูแสมของแม่พันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมัน 8% และอาหารสด ไขมันเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญต่อการมีชีวิตรอด และบทบาทสำคัญในการปรับสมดุลเกลือแร่ (physiological tasks) เป็นแหล่งสำรองพลังงาน (Energy reserves) ของตัวอ่อนครัสเตเชียนต่างๆ เช่น ไขมันกลุ่ม phospholipids เป็นแหล่งพลังงานของตัวอ่อนครัสเตเชียน (Bioenergetic substrate) โดยเฉพาะขณะตัวอ่อนเผชิญกับสภาวะขาดอาหารเป็นเวลานาน และขาดแคลนพลังงานจากแหล่งอื่นๆ (Anger, 2001) นอกจากนี้ไขมันในอาหาร เช่น กรดไขมัน Eicasopentaenoic acid (20:5n-3) และ Docosahexaenoic acid (22:6n-3) เป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญต่อการมีชีวิตรอด การพัฒนา และการเติบโตของตัวอ่อน (Sulkin and McKeen 1999, Anger,2001) โดยกรดไขมันเหล่านั้นถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานระหว่างการพัฒนาของตัวอ่อน (Cavalli *et al*., 1999) แต่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้ จึงต้องได้รับจากแหล่งอื่นหรือส่งผ่านจากแม่ปูในรูปของไข่แดง กรดไขมันจะถูกส่งผ่านจากแม่พันธุ์ไปยังตัวอ่อน จึงพบการสะสมกรดไขมันในปูเพศเมีย เช่น กรดไขมัน กลุ่ม Eicasopentaenoic acid (20:5n-3) และ Docosahexaenoic acid (22:6n-3) พบสะสมในรังไข่ จัดเป็น Ovarian lipid นอกจากนี้กรดไขมันอื่นๆ เช่น Palmitic acid (C16:0) Stearic acid (C18:0) และ Oleic acid (C18:1n9c) เป็นกรดไขมันหลักที่พบในตับอ่อน (Hepatopancreas) และรังไข่ (Ovary) บ่งชี้ถึงบทบาทของกรดไขมันต่อการสร้างไข่และตัวอ่อน (Tantikitti *et al*., 2015) ดังรายงานการพบกรดไขมันเหล่านี้ ในรังไข่ของปูทะเล *Scylla paramamosain* (Ying *et al.* 2006; Alava *et al.* 2007; Tantikitti *et al*., 2015) และขณะที่มีการพัฒนาของรังไข่ (Ying *et al.,* 2006) การเพิ่มระดับไขมันในอาหารทำให้ไขมันในรังไข่ ตับอ่อน กล้ามเนื้อและตัวอ่อนเพิ่มขึ้น (Alava *et al.* 2007) เช่นรายงานการศึกษาอิทธิพลของกรดไขมันกลุ่ม Highly unsaturated fatty acid (HUFA) ต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของแม่พันธุ์ปู *Eriocheir sinensis* โดยการเลี้ยงแม่พันธุ์ปูชนิดนี้ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับ HUFA ต่างกัน และพบความสัมพันธุ์เชิงบวกระหว่างระดับกรดไขมันกลุ่ม HUFA ในอาหารกับองค์ประกอบกรดไขมัน

กลุ่ม HUFA ในตับอ่อน รังไข่ และไข่ (Sui *et al.* 2011) ดังนั้นหากอาหารของแม่พันธุ์มีปริมาณไขมันที่มีกรดไขมันที่กล่าวมาข้างต้นต่ำ จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของเพศ และลดความสามารถของตัวอ่อนในด้านสรีรวิทยาที่มีอิทธิพลต่อพัฒนาการ การมีชีวิตรอด และการเติบโตของตัวอ่อน (Cahu *et al.*, 1995) ซึ่งตัวอ่อนปูแสมเป็นตัวอ่อนแบบ Lecithotrophic larvae ที่ต้องใช้พลังงานอาหารจากไข่แดง ซึ่งแตกต่างจากตัวอ่อนปูชนิดอื่นที่อาจเป็นตัวอ่อนแบบ Planktonic larva ที่สามารถหาอาหารในมวลน้ำ ดังนั้นกรดไขมันจึงจำเป็นต่อตัวอ่อนในแง่เป็นแหล่งพลังงานสำหรับตัวอ่อนระยะแรกฟัก (Zoea) การศึกษาครั้งนี้พบกรดไขมันกลุ่มนี้ในอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%-12% ที่ใช้เลี้ยงปูแสมมีสูงกว่าอาหารสด จึงอาจส่งผลต่อการคุณภาพของตัวอ่อน ดังนั้นตัวอ่อนของแม่พันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมันสูงกว่า จึงสามารถมีชีวิตรอดในสภาพอดอาหารได้นานกว่า แนวทางที่จะเพิ่มคุณภาพของตัวอ่อนจึงควรเติมกรดไขมันที่จำเป็นลงในอาหารสดหรืออาหารสำเร็จรูปให้เพียงพอกับความต้องการของตัวอ่อน (Azra and Ikhwanuddin, 2016)

2.2 อัตราการรอดตาย (Survival) และระยะเวลาพัฒนาการ (Duration development) ของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสม *E. Singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมันต่างกัน

จากการศึกษาอัตราการรอดตาย (Survival) ของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสม *E. Singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบอัตราการรอดตายอยู่ในช่วง 76.67-85.00 % (ตารางที่ 19) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างอัตราการรอดตายของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 19 ซึ่งการไม่พบความแตกต่างของอัตราการรอดตาย (Survival) ของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน เนื่องจากการอนุบาลตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันมีการให้อาหารแก่ตัวอ่อนเช่น โรติเฟอร์ ที่เท่ากัน และในอัตราที่เพียงพอต่อความต้องการของตัวอ่อนปูแสม ดังนั้นอัตราการรอดของตัวอ่อนที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันจึงไม่ต่างกัน

ตารางที่ 19 อัตราการรอดตายของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

รูปแบบอาหาร	อัตราการรอดตายของตัวอ่อนปูแสม ระยะ Zoea 1- ระยะ Zoea 2 (%)
อาหารสด	76.67 ± 6.09^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	79.17 ± 1.67^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	83.33 ± 6.67^{NS}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	85.00 ± 1.92^{NS}

หมายเหตุ อักษร NS ในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ส่วนระยะพัฒนาการ(Duration development) ของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบระยะพัฒนาการอยู่ในช่วง 2.86-3.30 วัน (ตารางที่ 20) โดยพบระยะเวลาพัฒนาการของตัวอ่อนปูแสม (พัฒนาจากระยะ Zoea 1 สู่ ระยะ Zoea 2) ของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากแม่พันธุ์ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมัน 10% และ 12% ใช้ระยะเวลาสั้นกว่า คือ 3.01±0.10 วัน และ 2.86±0.10วัน ตามลำดับ และแตกต่างกับระยะเวลาพัฒนาการของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากแม่พันธุ์ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมัน 8% และอาหารสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้พบตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดมีระยะเวลาพัฒนาการจากระยะ Zoea 1 สู่ ระยะ Zoea 2 ช้าสุด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%-12% มีการส่งผ่านกรดไขมันไปยังตัวอ่อนได้มากกว่า เนื่องจากพบกรดไขมันในไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%-12% มากกว่ากรดไขมันในไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสด ซึ่งกรดไขมัน เช่น Eicasopentaenoic acid (20:5n-3) และ Docosahexaenoic acid (22:6n-3) เป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญต่อการพัฒนา และการเติบโตของตัวอ่อน (Sulkin and McKeen 1999, Anger, 2001) จึงอาจเป็นผลให้ตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%-12%ใช้เวลาน้อยกว่าในการพัฒนาจากระยะ Zoea 1 สู่ ระยะ Zoea 2

ตารางที่ 20 ระยะเวลาพัฒนาการของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

รูปแบบอาหาร	ระยะเวลาพัฒนาการของตัวอ่อนปูแสม ระยะ Zoea 1- ระยะ Zoea 2 (วัน)
อาหารสด	3.30 ± 0.15^{b}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 8%	3.27 ± 0.09^{b}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10%	3.01 ± 0.10^{a}
อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 12%	2.86 ± 0.10^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3. องค์ประกอบทางชีวเคมี (Biochemical analysis) ของไข่ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของไข่ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบกรดไขมัน (Fatty Acid) ต่างๆ เช่น Palmitic acid (C16:0), Palmitoleic acid (C16:1), Linoleic acid (C18:2n6c), Oleic acid (C18:1n9c), Arachidonic acid (C20:4n6), Eicosapentaenoic acid (C20:5n3) และ Docosahexaenoic acid (C22:6n3) เป็นต้น ดังรายละเอียดในตารางที่ 21 ซึ่งเป็นกรดไขมันที่พบในไข่ของปูชนิดต่างๆ เช่น ปูขน *Eriocheir sinensis* (Wen *et al*., 2002)

ตารางที่ 21 องค์ประกอบทางชีวเคมี (Biochemical analysis) ของไข่ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

Fatty acid (mg/100g)	อาหารสด	อาหารสำเร็จรูปที่มีไขมันต่างกัน		
		8%	10%	12%
Saturated fatty acid (% of total lipid)				
Myristic acid (C14:0)	277.64	295.195	312.04	317.3025
Pentadecanoic acid (C15:0)	332.535	356.91	381.4	381.6475
Palmitic acid (C16:0)	6547.25	6721.235	6879	6879.243
Heptadecanoic acid (C17:0)	578.275	626.39	675.44	675.675
Stearic acid (C18:0)	2001.66	1995.435	1989.25	1990.348
Monounsaturated fatty acid (% of total lipid)				
Palmitoleic acid (C16:1)	2900.64	2830.6	2751.17	2750.765
Heptadecenoic acid (C17:1)	342.27	364.88	388.2	386.9213
Oleic acid (C18:1n9c)	6115.875	6140.95	6173.33	6176.014
Polyunsaturated fatty acid (% of total lipid)				
n-6 PUFA				
Linoleic acid (C18:2n6c)	2687.235	2524.655	2363.36	2365.819
Arachidonic acid (C20:4n6)	320.425	286.29	273.67	270.7025
n-3 PUFA				
Alpha Unolenic Acid (ALA) (C18:3n3)	1445.275	1499.89	1546.07	1546.093
Eicosapentaenoic acid (EPA) (C20:5n3)	244.54	261.13	273.6	258.3475
Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6n3)	137.5	141.125	152.155	143.65

กรดไขมัน Palmitic acid (C16:0) Stearic acid (C18:0) และ Oleic acid (C18:1n9c) เป็นกรดไขมันหลักที่พบในตับอ่อน (Hepatopancreas) และรังไข่ (Ovary) บ่งชี้ถึงบทบาทของกรดไขมัน

เหล่านี้ในการพัฒนาของรังไข่ (Tantikitti *et al*., 2015) ดังรายงานการพบกรดไขมันเหล่านี้ ในรังไข่ของปูทะเล *Scylla paramamosain* (Ying *et al.* 2006; Alava *et al*. 2007; Tantikitti, 2015)

กรดไขมันจำเป็นที่สำหรับครัสเตเชียน มักเป็นกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 (n-3) และโอเมก้า 6 (n-6) คือ Linoleic acid (18:2n-6), Linolenic acid (18:3n-3), Eicosapentaenoic acid (20:5n-3) และ Docosahexaenoic acid (22:6n-3) ซึ่งพบว่าความต้องการกรดไขมันทั้ง 2 กลุ่มนี้แตกต่างกันออกไปในสัตว์แต่ละชนิด ตามถิ่นที่อยู่อาศัยและสภาพแวดล้อม โดยกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 (n-3) มีแนวโน้มสำคัญกว่ากรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 6 (n-6) (สุพิศ และคณะ, 2555) Highly unsaturated fatty acids (HUFA) เช่น Eicasopentaenoic acid (20:5n-3) และ Docosahexaenoic acid (22:6n-3) เป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญต่อการมีชีวิตรอด การพัฒนา และการเติบโตของตัวอ่อนครัสเตเชียน (Sulkin and McKeen 1999) กรดไขมัน HUFA ส่วนใหญ่เป็นองค์ประกอบอาหารที่สำคัญ (Essential food components) และและพบว่าครัสเตเชียนสังเคราะห์ไขมัน HUFA ได้จำกัด (Cavalli *et al*., 1999; Wouters *et al*., 1999; Suprayudi *et al*.,(2004) ซึ่งกรดไขมันกลุ่ม Eicasopentaenoic acid (20:5n-3) และ Docosahexaenoic acid (22:6n-3) เป็นลิปิดที่พบสะสมในรังไข่ (ovarian lipid) หากอาหารของแม่พันธุ์มีปริมาณ HUFA ต่ำ จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของเพศ และลดความสามารถของตัวอ่อนในด้านสรีรวิทยา (physiological condition) ของตัวอ่อนแรกฟัก มีผลต่อพัฒนาการ การมีชีวิตรอด และการเติบโตของตัวอ่อน (Cahu *et al*., 1995) และหากเติมกรดไขมันกลุ่ม HUFA ที่ในอาหารจะเป็นเป็นประโยชน์ต่อการมีชีวิตรอด การเติบโต การทนต่อความเครียดและลดการตายจาก Molting death syndrome (MDS) ของปูตัวอ่อนและปูระยะวัยรุ่นของปูชนิดต่างๆ เช่น ปูชนิด *Scylla serrata* (Suprayudi *et al*., 2004; Holme *et al*., 2007) และปูชนิด *Portunus trituberculatus* (Takeuchi *et al*., 1999) จากรายงานต่างๆ พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างองค์ประกอบ HUFA ในรังไข่และตัวอ่อนกับองค์ประกอบของ HUFA ในอาหาร (Alava *et al*., 1993; Cahu *et al*., 1995; Cavalli *et al*., 1999; Wouters *et al*., 2001; Wen *et al*., 2002; Sui *et al*., 2009) นอกจากนี้มีรายงานเกี่ยวกับไข่ของครัสเตเชียนหลายชนิดที่มีองค์ประกอบกรด HUFA หรือ DHA สูงจะมีแนวโน้มที่มีอัตราการฟักสูง (Cahu *et al*., 1995; Cavalli *et al*., 1999; Wen *et al*., 2002) ดังนั้นการพบกรดไขมันที่กล่าวมาข้างต้นในไข่ปูแสมชนิดนี้เป็นการแสดงถึงบทบาทของกรดไขมันต่อระบบสืบพันธุ์ของปูแสมชนิดนี้ เช่น ความดกไข่ และการฟักไข่ เป็นต้น

สรุปผลการวิจัย

ผลการวิจัยเกี่ยวกับคุณภาพตัวอ่อนและการตอบสนองการสืบพันธุ์ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกันสามารถสรุปได้ดังนี้

1. การศึกษาการตอบสนองการสืบพันธุ์ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมันต่างกัน

1.1 อัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดอง (Survival of females before spawning; SFBS) ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดอง (Survival of females before spawning; SFBS) ของปูแสมเพศอยู่ในช่วงร้อยละ 43.75-45.00 (ตารางที่ 3) และปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10% และ 12% มีอัตราการรอดตายก่อนมีไข่นอกกระดองสูงสุด (45.00%) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

1.2 อัตราการมีไข่นอกกระดองของปูแสมเพศเมีย (Percentage of female spawned; PFS) ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบในช่วง 36.25-40.00% ปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปมีที่มีไขมัน 10% มีอัตราส่วนร้อยละของการมีไข่นอกกระดองสูงสุด (40.00±7.07%) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างอัตราส่วนร้อยละของการมีไข่นอกกระดองของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

1.3 อัตราความสำเร็จในการฟักไข่ของปูแสมเพศเมีย (Percentage of berried females successfully hatched; PBFSH) ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบในช่วง 16.42-28.82% ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปมีที่มีไขมัน 10% มีอัตราส่วนร้อยละของความสำเร็จในการฟักไข่สูงสุด (28.82±7.81%) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างอัตราส่วนร้อยละของความสำเร็จในการฟักไข่ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

1.4 ความดกไข่ (Fecundity) ของปูแสมเพศเมีย *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบอยู่ในช่วง 22,647-27,247 ฟอง โดยปูเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีไขมัน 10% มีความดกไข่สูงสุด (27,247 ฟอง) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างความดกไข่ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

1.5 ขนาด (Size) ปริมาตร (Volume) และน้ำหนัก (Mass) ของไข่ปูแสม *E. singaporense* เลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกัน พบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไข่ปูแสมอยู่ในช่วง 311.05-313.64 ไมโครเมตร และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไข่ปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ปริมาตรของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน อยู่ในช่วง 15.03×10^{6} -15.24×10^{6} ลูกบาศก์ไมโครเมตร และพบปริมาตรของไข่ปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนน้ำหนักของไข่ปูแสมจากปูแสมเพศเมีย *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบน้ำหนักของไข่ปูแสมอยู่ในช่วง 0.000046-0.000060 กรัม และพบน้ำหนักของไข่ของปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับไขมัน 8-12% มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับน้ำหนักของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสด

1.6 อัตราการฟักไข่ (Egg hatchability) และระยะเวลาการพัฒนาของไข่ (Egg development time) ของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบอัตราการฟักไข่ในช่วงร้อยละ 61.80-69.00 แต่อัตราการฟักไข่ของปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนระยะเวลาการพัฒนาของไข่ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ต่างกัน พบระยะเวลาการพัฒนาของไข่อยู่ในช่วง 22.80-24.20 วัน แต่ระยะเวลาการพัฒนาของไข่ปูแสมเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

2. การศึกษาคุณภาพตัวอ่อนของปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน

2.1 ความทนทานด้วยการอดอาหาร (Tolerance to starvation) ของตัวอ่อนปูแสมระยะ Zoea 1 ที่ได้จากปูแสม เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน พบค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอดอยู่ในช่วง 3.02-3.82 วัน โดยพบค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมัน 10% และ 12% มีค่าสูงสุดคือ 3.78±0.10 และ 3.82±0.17 วัน ตามลำดับ และแตกต่างกับค่าเฉลี่ยเวลาการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมัน 8% และเลี้ยงด้วยอาหารสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้พบตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากแม่พันธุ์ปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดมีความทนทานต่อการอดอาหารต่ำสุด

2.2 อัตราการรอดตาย (Survival) และระยะเวลาพัฒนาการ (Duration development) ของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับไขมันต่างกัน พบอัตราการรอดตายอยู่ในช่วง 76.67-85.00 % แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างอัตราการรอดตายของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสม ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน ส่วนส่วนระยะพัฒนาการ (Duration development) ของตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันพบระยะพัฒนาการอยู่ในช่วง 2.86-3.30 วัน และพบตัวอ่อนปูแสมที่ได้จากปูแสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสดมีระยะเวลาพัฒนาการจากระยะ Zoea 1 สู่ ระยะ Zoea 2 ช้าสุด

3. องค์ประกอบทางชีวเคมี (Biochemical analysis) ของไข่ปูแสม *E. singaporense* ที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกันมีกรดไขมันต่างๆ ได้แก่ Palmitic acid (C16:0), Palmitoleic acid (C16:1), Linoleic acid (C18:2n6c), Oleic acid (C18:1n9c), Arachidonic acid (C20:4n6), Eicosapentaenoic acid (C20:5n3) และ Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6n3)

เอกสารอ้างอิง

บรรจง เทียนส่งรัศมี. 2552. ปูแสม...กำลังวิกฤติ ร่วมคิดร่วมเลี้ยงปู ดูแลป่า แก้ปัญหา พัฒนาป่าชุมชน. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) กรุงเทพฯ. 104 หน้า

ด่านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดตราด. กรมประมง. 2559. สรุปข้อมูลการนำเข้า - ส่งออกสินค้าสัตว์น้ำ ซากสัตว์น้ำในแต่ละปีงบประมาณ. ด่านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดตราด. กรมประมง. เวปไซต์: 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)

ชาญยุทธ สุดทองคง ธำมรงค์ ตันภิบาล และวัฒนา วัฒนกุล. 2559. การสร้างไข่นอกกระดองของปูแสม *Episesarma singaporense* ระยะวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างกัน.วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 8(1) : 51-59

ชาญยุทธ สุดทองคง และวัฒนา วัฒนกุล. 2562. ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูแสม *Episesarma singaporense* บริเวณป่าชายเลน จังหวัดตรัง. รายงานการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 32 หน้า

มูฮัมหมาด จิตรณรงค์. 2558. อิทธิพลของความเค็มต่อการเพาะและอนุบาลปูแสม *Episesarma singaporense* (Tweedie, 1936). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 87 หน้า

สริณา แดงดี ศุภรัตน์ คงโอ และชาญยุทธ สุดทองคง. 2557. ความดกไข่และอัตราการฟักไข่ของปูแสม *Episesarma singaporense*. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 8 (2): 1-9.

สุพิศ ทองรอด มนทกานติ ท้ามติ้น และสิริพร ลือชัยชัยกุล. 2555. อัตราส่วนระหว่างกรดไขมันจำเป็น n-3/n-6 ในอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon Fabricius, 1798) ในกระชังในบ่อดิน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 18/2555. กรมประมง กรุงเทพ: 26 หน้า

Alava *et al.,* 2007. Reproductive performance, lipids and fatty acids of mud crab *Scylla serrata* (Forsskal) fed dietary lipid levels. Aquaculture Research 38: 1442-1451.

Anger, K. 2001. The Biology of Decapod Crustacean Larvae. *Crustacean Issues* 14.Balkema publishers, Rotterdam, Netherlands : 420 pp.

Arshad, A., Efrizal, Kamarudin, M.S. and Saad, C.R. 2006. Study on Fecundity, Embryology and Larval Development of Blue Swimming Crab *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) under Laboratory Conditions. Res. J. of Fish. Hydrob. 1 (1): 35-44.

Azra, M.N., and Ikhwanuddin, M. 2016. A review of maturation diets for mud crab genus Scylla broodstock: Present research, problems and future perspective. Saudi Journal of Biological Sciences 23: 257-267.

Cahu, C.L., Cuzan, G., and Quazuguel, P. 1995. Effect of highly unsaturated fatty acid, α-tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. Comparative Biochemical Physiology 112A (3–4): 417–424.

Castiglioni, D.S. and Santos, S. 2001. Reproductive aspects of *Cyrtograpsus angulatus* Dana, 1851 (Brachyura, Grapsidae) in the Lagoa do Peixe, Rio Grande do Sul State, Brazil. Nauplius 9(1):11-20.

Cavalli, R.O., Lavens, P., and Sorgeloos, P., 1999. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. Aquaculture 179: 387–402.

César, II., Armedariz, L.C. and Becerra, R.V. 2005. Bioecology of the fiddler crab *Uca uruguayensis* and the burrowing crab *Chasmagnathus granulatus* (Decapoda, Brachyura) in the Refugio de Vida Silvestre Bahía Samborombón, Argentina. Hydrobiologia 545 (1): 237-248.

Costa, M.T., Januario Silva, S.M. and Negreiros-Fransozo, M.L. 2006. Reproductive pattern comparison of *Uca thayeri* Rathbun, 1900 and U. *uruguayensis* Nobili, 1901 (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae). Brasil. Arq. Biol. Technol., vol. 49, no. 1, p. 117-123.

da Silva, S.M.J., Hirose. G.L., and Negreiros-Fransozo, M.L. 2007. Population dynamic of *Sesarma rectum* (Crustacea, Brachyura, Sesarmidae) from a muddy flat under human impact, Paraty, Rio de Janeiro, Brazil. Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre 97(2): 207-214.

Doi, W., Lwin, T., Yokota, M., Strussmann. C.-A., Watanabe, S. 2007. Maturity and reproduction of goneplacid carb *Carcinoplax vestita* (Decapoda, Brachyura) in Tokyo Bay. Fisheries Science 73: 31-340.

Djunaidah, I.S., Wille, M., Kontara, E.K., and Sorgeloos, P. 2003. Reproductive performance and offspring quality in mud crab (*Scylla paramamosain*) broodstock fed different diets. Aquaculture International 11: 3–15.

Figueiredo, J., Penha-Lopes, G., Anto, J., Narciso, L., and Lin, J. 2008. Fecundity, brood loss and egg development through embryogenesis of *Armases cinereum* (Decapoda: Grapsidae). Marine Biology 154: 287–294.

Garcia-Guerrero, M. and Hendrickx, M.E. 2006. Embryology of decapod crustaceans, III: Embryonic development of *Eurypanopeus canalensis* Abele & Kim, 1989, and *Panopeus chiensis* H. Milne Edwards & Lucas, 1844 (Decapoda, Brachyura, Panopeidae). Belgian Journal of Zoology. 136(2): 249-253 p.

Hamasaki, K., Fukunaga, K., and Kitada, S. 2006. Batch fecundity of the swimming crab *Portunus trituberculatus* (Brachyura: Portunidae). Aquaculture 253: 359–365.

Harrison, K.E. 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review. Journal of Shellfish Research 9: 1-28.

Heter, H., Dely, B., Swingle, J., Lean, C. 2011. Morphometrics Fecundity, and Hatch Timing of Blue crabs (*Paralithodes platypus*) from the Bering Strait, Alaska, USA. Journal of Crustacean Biology. 31(2): 304-312.

Hines, A.H., 1982. Allometric constraints and variables of reproductive effort in brachyuran crabs. Mar. Biol. 69: 309– 320.

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.

Ikhwanuddin, M., Azra, M.N., Siti-Aimuni, H. and Abol-Munafi, A.B., 2012. Fecundity, embryonic and ovarian development of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) in coastal water of Johor, Malaysia. Pakis. J. Biol. Sci. 15(15): 720-728.

Leme, M.H.A. 2004.Fecundity and fertility of the mangrove crab *Sesarma rectum* Randall, 1840 (Grapsoidea) from Ubatuba, São Paulo, Brazil. Nauplius.12: 39-44.

Lima, G., Soares, M., Oshiro, L. 2006. Reproductive biology of the sesarmid crab *Armases rubripes* (Decapoda, Brachyura) from an estuarine area of the Sahy River, Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. Porto Alegre. 96(1): 47-52.

Millamena, O.M. 1989. Effect of fatty acid composition of broodstock diet on tissue fatty acid patterns and egg fertilisation and hatching in pond-reared *Penaeus monodon*. Asian Fish. Sci. 2: 127-134.

Millamena, O.M., and Quinitio, E. 2000. The effects of diets on reproductive performance of eyestalk ablated and intact mud crab *Scylla serrata*. Aquaculture 181: 81–90.

Millamena, O.M., and Bangcaya, J.P. 2001. Reproductive performance and larval quality of pond-raised *Scylla serrata* females fed various broodstock diets. Asian Fisheries Science 14: 153–159.

Rasheed, R and Mustaquim, J. 2010. Size at sexual maturity, breeding season and fecundity of three-spot swimming crab *Portunus sanguinolentus* (Herbst, 1783) (Decapoda, Brachyura, Portunidae) occurring in the coastal waters of Karachi. Pakis. Fish. Res. 103: 56–62

Ribeiro, F.B., Matthews-Cascon, H., and L. E. A. Bezerra. 2012. Population structure and reproductive biology of the crab *Sesarma rectum* Randall, 1840 (Brachyura, Sesarmidae) in an impacted tropical mangrove in northeast Brazil. Crustaceana 85 (2): 173-188.

Phnheiro, M.A.A. and Hattori, G.Y..2003 Embryology of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyuran: Ocypodidae). Journal of crustacean biology. 23: 729-737.

Schneider, C.A., Rasband, W.S., and and Eliceiri, K.W. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nature Methods 9(7): 671-675.

Sokal, R.R. and Rohlf, F.J.1995. Biometry, The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. Freeman, New York, NY. 887 pp.

Sulkin, S.D. and McKeen, G.L. 1999. The significance of feeding history on the value of heterotrophic microzooplankton as prey for larval crabs. Marine Ecology Progress Series 186: 219-225.

Sui, L.Y., Wu, X.G., Wille, M., Cheng, Y.X., and Sorgeloos, P., 2009. Effect of dietary soybean lecithin on reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock. Aquaculture International 17: 45-56.

Sui, L.y., Sun, H. X., Wu, X. G., Wille, M., Cheng, Y. X. and Sorgeloos, P. 2011. Effect of dietary HUFA on tissue fatty acid composition and reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) broodstock. Aquaculture International 19:269–282.

Suprayudi, M.A., Takeuchi, T., Hamasaki, K., 2004. Essential fatty acids for larval mud crab, *Scylla serrata*: implications of lack of the ability to bioconvert C18 unsaturated fatty acids to highly unsaturated fatty acids. Aquaculture 231: 403–416.

Takeuchi, T., Nakamoto, Y., Hamasaki, K., Sekiya, S., and Watanabe, T. 1999. Requirement of n-3 highly unsaturated fatty acids for larval swimming crab *Portunus trituberculatus*. Nippon Suisan Gakk. 65 (5): 797-803.

Tantikitti, C., Kaonoona, R., and Pongmaneerat, 2015. Fatty acid profiles and carotenoids accumulation in hepatopancreas and ovary of wild female mud crab (*Scylla paramamosain*, Estampador, 1949). Songklanakarin J. Sci. Technol. 37 (6): 609-616.

Wouters, R., Piguave, X., Calderon, J., and Sorgeloos, P., 2001. Ovarian maturation and haemolymphatic vitellogenin concentration of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA. Aquaculture Research 32: 573 –582.

Wen, X.B., Chen, L.Q., Zhou, L.Z., Ai, C.X., and Deng, G.Y. 2002. Reproductive response of Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) fed different sources of dietary lipid. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 131: 675–681.

Wu, X., Cheng, Y., Sui, L., Zeng, C., Southgate, P.C., and Yang, X. 2007. Effect of dietary supplementation of phospholipid and highly unsaturated fatty acids on reproductive performance and offspring quality of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards), female broodstock. Aquaculture 273: 602–613.

Wu, X., Cheng, Y., Zeng, C., Sui, L., Southgate, P.C., and Zhou, G. 2009. Reproductive performance and offspring quality of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) females fed an optimized formulated diet and the razor clam *Sinonovacula constricta*. Aquaculture Research 40: 1335-1349.

Wu, X., Cheng, Y., Zeng, C., Wang, C., and Cui, Z. 2010. Reproductive performance and offspring quality of the first and the second brood of female swimming crab, *Portunus trituberculatus*. Aquaculture 303: 94–100

Yin, T.F. and Kian, A.Y.S. 2017. Effect of different maturation diets on reproductive performance of the broodstock of purple mangrove crab, *Scylla tranquebarica*. Borneo Journal of Marine Science and Aquaculture 1: 44-50.

Ying, X.P., Yang, W.X. and Zhang, Y.P. 2006. Comparative studies on fatty acids at different physiological stage of the Chinese mitten crab. Aquaculture. 256, 617-623.