

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ปริมาณและองค์ประกอบของโปรตีนในเลือดของปูทะเล (*Scylla spp.*) ที่รังไข่มีการเจริญใน
ระยะต่างๆ

Protein content and protein component of haemolymph for the classification of
ovarian developmental stages in mud crab (*Scylla spp.*)

ชื่อนักศึกษา
ชื่ออาจารย์ที่
ชื่ออาจารย์ที่

ได้พิจารณาเ

อาจารย์ที่ปรี

อาจารย์ที่ปรี



ภาควิชารับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ เดือน พ.ศ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ปริมาณและองค์ประกอบของโปรตีนในเลือดของปูทะเล (*Scylla spp.*) ที่รังไข่มีการเจริญ
ในระยะต่างๆ

Protein content and protein component of haemolymph for the classification of ovarian
developmental stages in mud crab (*Scylla spp.*)



9258



๗
๕
๑๕

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 99258.....
วัน,เดือน,ปี.....

11882598
.b.....
.i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520
ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ปริมาณและองค์ประกอบของโปรตีนในเลือดของปูทะเล (*Scylla spp.*) ที่รังไข่มีการเจริญ ในระยะต่างๆ

Protein content and component of haemolymph for the classification of ovarian
developmental stages in mud crab (*Scylla spp.*)

ปูทะเลเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีความสำคัญและมีความต้องการบริโภคเพิ่มมากขึ้น แต่
ในปัจจุบันพบว่าประชากรปูทะเลในธรรมชาติจากแหล่งต่างๆลดลงอย่างรวดเร็ว ได้มีผู้ทำการ
ทดลองเพาะเลี้ยง การจำแนกระยะ
การเจริญของรังไข่ รจำแนกระยะการ
เจริญของรังไข่ที่ ิณธุ์ปูทะเลได้
การศึกษาครั้งนี้โ osian จากแหล่ง
ต่างๆได้แก่ ตรัง รังไข่ที่เจริญอยู่ใน
ระยะต่างๆ คำนว ดค่าการหักเหแสง
ของเลือด โดยเ nique และนำมา
วิเคราะห์องค์ประ เพื่อยืนยันความ
เหมาะสมของดัชนี ัย จากการศึกษา
หาปริมาณโปรตีน ะยะการเจริญของ
รังไข่ที่ 1 , 2 , 3 และ ี , 129.24±3.54
mg/ml และ 166 องปูทะเลเพศเมีย



Scylla olivacea ตามระยะการเจริญของรังไข่ที่ 1 , 2 , 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 32.97±7.08mg/ml ,
99.65±5.81 mg/ml , 134.42± 10.83 mg/ml และ 172.27 ± 4.34 mg/ml ตามลำดับ ผล
การวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนพบว่าแถบของโปรตีนในแต่ละระยะมีความแตกต่างกันซึ่ง
ความเข้มของแถบจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะการเจริญของรังไข่เพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาปริมาณ
และองค์ประกอบของโปรตีนในเลือดจะพบว่า ปริมาณของโปรตีนในเลือดจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะ
การเจริญของรังไข่เพิ่มมากขึ้น และองค์ประกอบของโปรตีนในเลือดของปูทะเลมีการเปลี่ยนแปลง
โดยพบว่าความเข้มของแถบจะเพิ่มมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของโปรตีนในเลือดที่เพิ่มขึ้น
ตามระยะการเจริญของรังไข่ สีของเลือดและค่าหักเหแสงของเลือดมีความสัมพันธ์กับปริมาณและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบของโปรตีนในเลือดตามระยะการเจริญของรังไข่ ดังนั้นค่าหักเหแสงของเลือดและดี
ของเลือดเป็นดัชนีที่มีความเหมาะสมที่ใช้ในการจำแนกระยะการเจริญของรังไข่ของปูทะเลเพศเมีย
เนื่องจากเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปูทะเลสามารถนำไปใช้ในการจัดการแม่พันธุ์ปูทะเลได้ แต่ในการใช้
ดีเลือดเกษตรกรต้องมีความชำนาญมากพอในการจำแนกระยะการเจริญของรังไข่



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลงได้รับการสนับสนุน และ ได้รับความช่วยเหลือจาก
หลายๆ ฝ่าย ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. อรวรรณ สัตยาลัย และ ผศ.ดร.จันทร์เพ็ญ จันทร์
เจ้า ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้คำแนะนำและให้
ความช่วยเหลือทางด้านสถานที่ อุปกรณ์ สารเคมี และการแก้ปัญหาในการทำปัญหาพิเศษ ณ
โอกาสนี้ ขอขอบพระคุณ ดร. อนัญญา เจริญพรนิพัทธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำตลอดการทำปัญหา
พิเศษ ขอขอบพระคุณอาจารย์ และ เจ้าหน้าที่ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่าน และ
ขอขอบคุณ คุณอัจฉริยา ไชยวัฒน์ ที่แนะนำการใช้อุปกรณ์ Spectrophotometer และ
คุณ สิทธิพล อินทรพัฒน์ ให้ความช่วยเหลือและแนะนำการทำการทดลอง และเพื่อนทุกคนที่ได้ให้
ความช่วยเหลือ
บขอบพระคุณบิดา
มารดา ที่ทำให้



วุฒิ ประเสริฐโยธิน
กุมภาพันธ์ 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
อนุกรมวิธาน	3
แหล่งที่อยู่อาศัย	6
การแพร่กระจาย	7
วงจรชีวิตของปูทะเล	8
การเจริญเติบโต	9
ชีววิทยาการสืบ	12
องค์ประกอบของ	ean 16
อุปกรณ์และวิธีการ	22
ขั้นตอนการทำ	23
ผลและวิจารณ์	25
สรุปผลการทดลอง	33
ข้อเสนอแนะ	34
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	38



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การกระจายตัวของปูทะเลสายพันธุ์ <i>Scylla spp.</i>	8
2	ลักษณะขนาดและสีของไขปูทะเล (<i>Scylla spp.</i>) ในระยะต่างๆ	13
3	ความเข้มข้นของโปรตีน , lipovitellin , เม็ดไขมัน , ไขมันในรังไข่	20
4	ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยากับระยะการเจริญของรังไข่ของปูทะเล <i>Scylla olivacea</i>	27
5	ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยากับระยะการเจริญของรังไข่ของปูทะเล <i>Scylla paramamosian</i>	27
6	ค่าดูดกลืนแสงของเลือดของปูทะเล (<i>Scylla spp.</i>) ที่ 595 nm	28
7	ปริมาณ	30

ตารางผนวกที่

1	การเตรียม	42
2	สีเลือด	44
3	สีเลือด	45
4	ค่า GSI	46
5	ค่า GSI	47
6	ค่าหักเห	48
7	ค่าดูดกลืน	49



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ความแตกต่างระหว่างเพศของปูทะเล (<i>Scylla spp.</i>)	5
2	ปริมาณปูทะเลเพศต่างๆที่จับได้ที่คลองหวาง จ. ระนอง ในปี 2536	6
3	ป่าชายเลนแหล่งที่อาศัยของปูทะเล (<i>Scylla spp.</i>)	7
4	วงจรชีวิตของปูทะเล (<i>Scylla spp.</i>)	9
5	วงจรการลอกคราบของปูทะเล (<i>Scylla spp.</i>)	10
6	ระยะการเจริญของรังไข่ปูทะเลระยะที่ 1	13
7	ระยะการเจริญของรังไข่ปูทะเลระยะที่ 2	14
8	ระยะการเจริญของรังไข่ปูทะเลระยะที่ 3	14
9	ระยะการ	15
10	สีของไข่	25
11	Standa	
	ของปูทะเล	29
12	Standa	
	ของปูทะเล	29
13	ลักษณะ	
	ที่ได้จาก	31
14	ลักษณะ	
	ที่ได้จาก	32



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปูทะเลมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Scylla spp.* และมีชื่อสามัญว่า mudcrab ซึ่งถือว่าปูทะเลเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีความสำคัญ ในปัจจุบันปริมาณการบริโภคสัตว์ทะเล เช่น กุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และปูทะเล มีปริมาณที่เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ในทางกลับกันประชากรปูทะเลในธรรมชาติกลับลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการจับปูทะเลจากธรรมชาติมากเกินไป อีกทั้งยังไม่มีการพัฒนาการจัดการพ่อแม่พันธุ์ของปูทะเลเพื่อให้ได้ลูกพันธุ์ที่มีคุณภาพได้ จึงทำให้ปริมาณของปูทะเลในธรรมชาติลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วทำให้ปูทะเลเป็นที่สนใจและได้มีการวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงปูทะเลเพิ่มมากขึ้น แต่ยังคงขาดความรู้ทั้งในด้านชีววิทยาพื้นฐานของปูทะเล และเทคนิคในการเพาะเลี้ยงอีกหลายด้าน จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อให้การเพาะเลี้ยงปูทะเลประสบผลสำเร็จพร้อม

รัชฎา (2540) เหมาะสม เอื้อ อัตราการอยู่รอด ว่า แม่ปูทะเลมีการสามารถวินิจฉัยให้อาหารแก่แม่ Vitellogenin ใน ปริมาณของ ประสิทธิภาพจึง เปลี่ยนแปลงจึง ไข่ได้ เพื่อ



ต่างๆ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับของฮอร์โมนเพศของปูทะเล การทำปัญหาพิเศษ ในครั้งนี้เป็นรากฐานสำคัญที่ใช้ในการพัฒนาการจัดการพ่อแม่พันธุ์ของปูทะเลให้มีประสิทธิภาพ มากขึ้นส่งผลให้ทรัพยากรในอนาคตกลับมาอุดมสมบูรณ์ ปูทะเลพอเพียงต่อความต้องการของ ผู้บริโภค

ต่อไปในอนาคต ะดองให้มีสภาวะที่ ोनของปูทะเลให้มี ุหาในการวินิจฉัย ะเลี้ยงแม่พันธุ์ปูทะเล ะการวางแผนการ ะปริมาณของโปรตีน ะการวิเคราะห์เพื่อหา ะไปใช้ได้อย่างเต็ม ะeninในเลือดมีการ ะจำแนกระยะของรัง ะมีการพัฒนาระยะ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเลเพศเมียที่มีรังไข่เจริญอยู่ในระยะต่างๆ โดยใช้ Bradford technique
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนในเลือดของปูทะเล (*Scylla spp.*) ที่รังไข่มีการเจริญในระยะต่างๆ ด้วยวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) และ Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS- PAGE)
3. เพื่อนำผลการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและปริมาณของโปรตีนในเลือดของปูทะเลเพศเมียไปหาความสัมพันธ์กับสีเลือดและค่าหักเหแสงของเลือดของปูทะเลที่รังไข่มีการเจริญในระยะต่างๆ เพื่อยืนยันความเหมาะสมในการนำค่าสีของเลือด และการหักเหแสง ไปใช้ในการจัดการแม่พันธุ์ปูทะเล

ประโยชน์ที่ค้

1. เก:
2. ทำ

รังไข่ได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

1. อนุกรมวิธาน

ปูทะเลในประเทศไทยเดิมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Scylla serrata* (Forsk., 1775) มีชื่อสามัญเรียกทั่วไปว่า Mud crab หรือ Mangrove crab ในประเทศไทยพบว่ามีกรเรียกชื่อสามัญของปูทะเลหลายชื่อเช่น ปูดำ , ปูขาว , ปูแดง , ปูเขียว ซึ่งต่อมา Keenan et al. (1998) พบว่าสำหรับใน Genus *Scylla* มี 4 ชนิดได้แก่ *S. serrata* , *S. tranguerbarica* , *S. olivacea* และ *S. paramamosian* ปูทะเลมีลำดับการจัดจำแนกตามอนุกรมวิธาน ดังนี้

Phylum	Arthropoda
Class	Crustacea
Suk	Decapoda
Sup	
Ord	
Sub	Scyllaridae
Infra	
Sec	Scyllaridae
Sup	
Fam	Scyllaridae
Gen	
Spec	<i>Scylla tranguerbarica</i> <i>Scylla paramamosian</i>



2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.1 ลักษณะภายนอกทั่วไป

ปูทะเลมีส่วนประกอบของ Exoskeleton 2 ส่วน คือ มีส่วนหัวกับส่วนอกรวมกันเรียกว่า cephalothorax ส่วนนี้จะมีกระดองห่อหุ้มไว้ กระดองจะกว้างเรียบแบน ขอบกระดองมีลักษณะคล้ายหนามหรือซี่เลื่อย หนามขอบกระดองที่อยู่ระหว่างเบ้าตา (frontal teeth) 2 คู่เป็นรูปสามเหลี่ยมปลายมนอยู่ในแนวระดับเดียวกัน หนามด้านข้างของกระดอง (antero lateral) มีข้างละ 9 อัน รวมทั้งหนามเบ้าตานอก (outer orbital teeth) ซึ่งมีรูปร่างและขนาดเหมือนกัน ก้าม (cheliped) สั้นป้อม ผิวเรียบ รยางค์ข้อด้านนอกไม่มีหนาม หรือมีร่องรอยของหนามหนึ่งอัน สั้นแบนก้าม (propodus) ไม่ชัดมีหนามที่ปลายสัน 2 อัน ของมุมข้างกระดองด้านท้ายเป็นสัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่อนข้างตรง ปลายสันชิดกับขอบหลังกระดอง ก้ามมีสี่เช่นเดียวกับกระดอง ส่วนที่ 2 คือ ส่วนท้อง เป็นลักษณะภายนอกที่สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนคือ abdomen ของปูเป็นส่วนที่ลดขนาดลงและงอพับกลับไปด้านหลังได้ โดยมีวิวัฒนาการเปลี่ยนแปลงเป็นแผ่นบางๆ เรียกว่า "จับปิ้ง" เป็นอวัยวะที่ใช้เป็นที่อุ้มพุงไข่ของแม่ปู (ในระยะที่มีไข่นอกกระดอง) นอกจากนี้ยังเป็นอวัยวะที่ใช้แยกเพศได้อีกด้วย ปูทะเลมีขา 5 คู่ ขาคู่แรกอยู่หน้าสุดมีขนาดใหญ่มากเป็นพิเศษเรียกว่า ก้าม ปลายของก้ามปูแยกเป็น 2 ง่าม มีลักษณะคล้ายคีม ใช้จับเหยื่อกินและป้องกันตัว ปลายสุดของขาคู่ที่ 2-4 มีลักษณะแหลมเรียกว่า ขาเดิน เพราะทำหน้าที่ในการเดินเคลื่อนที่ ส่วนขาคู่ที่ 5 ซึ่งเป็นคู่สุดท้ายเรียกว่า ขาวายน้ำ ตอนปลายสุดของขาคู่นี้ มีลักษณะแบนคล้ายใบพาย เพื่อความสะดวกในการว่ายน้ำ สำหรับอวัยวะภายในทั้งหมด ได้แก่ หัวใจ กระเพาะอาหาร ระบบประสาท ระบบสืบพันธุ์ จะรวมกันอยู่ภายใน cephalothorax (เสนห์ ผลประสิทธิ์, 2541)

2.2 ลัก

สา
เพศผู้มีส่วนจับปิ้ง
ท้องของทรงวงอก
เปลี่ยนมาจากรย
ปลายเรียวเล็ก
โดยเก็บไว้ที่ถุงเก็บ
(pleopod) 4
เป็นระยะที่ไซที่ได้
ขนาดใหญ่กว่าเพ
เมียขณะที่มีการผ



abdomen) ปูทะเล
ก็อบเต็มปิดด้าน
opod หรือ penis
รูปร่างยาวตรง
ับปูทะเลเพศเมีย
รยางค์ขาวายน้ำ
ออกมาภายนอก
ของปูเพศผู้จะมี
ไว้สำหรับจับปูเพศ

2.3 ลัก

จับปิ้งของปูเพศเมียจะเปลี่ยนแปลง ลักษณะ ขนาด และสีทุกครั้งเมื่อปูลอกคราบ ดังนั้นลักษณะ ขนาด และ สีของจับปิ้ง สามารถใช้เป็นตัวกำหนดความสมบูรณ์ทางเพศของปูทะเลเพศเมียได้ดังนี้ (บรรจงและบุญรัตน์, 2545)

2.3.1 ความสมบูรณ์เพศขั้นขั้นที่ 1 ระยะนี้จับปิ้งมีรูปร่างแคบ ยาวเรียวยาว ปูดำตัวเมียในระยะนี้จะมีความกว้างของกระดองระหว่าง 5.5 - 8.5 cm ส่วนปูขาวหรือปูทองเหลืองจะมีขนาดประมาณ 7.9 - 9.0 cm ในขั้นนี้ปูลอกคราบหลายครั้ง ทุกครั้งรูปร่าง และลักษณะของจับปิ้งจะเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยส่วนกว้างขยายออก

2.3.2 ความสมบูรณ์เพศขั้นที่ 2 ระยะนี้ขนาดของจับปิ้งจะใหญ่ขึ้นแต่ยังไม่เต็ม ส่วนนอก ขอบของจับปิ้งมีลักษณะโค้งออก มีขนสั้น ๆ สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า ส่วนท้อง มีสี
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คล้ายกับปูตัวเมียชั้นที่ 1 ชาวประมงเรียกว่าปูเพศเมียที่ยังไม่สมบูรณ์เพศในระยนี้ว่าปูทะเลไทย เพราะจับปูของปูเพศเมียในระยนี้มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างปูเพศผู้และปูเพศเมีย เมื่อเปิดส่วนท้องออกจะเห็น pleopod มีขนสั้น ๆ ปูดำในระยนี้จะมีขนาดกระดองกว้างระหว่าง 7.4 - 9.6 cm ถ้าเป็นปูขาวจะมีขนาดประมาณ 9.0-12.0cm เมื่อลอกคราบแล้วจะเป็นตัวเมียชั้น 3

2.3.3 ความสมบูรณ์เพศชั้นที่ 3 ระยนี้ขอบของจับปูจะโค้งออกคล้ายวงกลมคลุมเต็มส่วนนอก ที่ขอบมีขนยาวโดยรอบ เป็นระยของปูที่รังไข่ได้พัฒนาอยู่ระหว่างชั้นที่ 3 และชั้นที่ 4 ถ้าเป็นปูดำจะพบในปูขนาดกระดองกว้างระหว่าง 9.4 -13.4 cm ขึ้นไป ส่วนปูขาวจะมีขนาดกระดองกว้างประมาณ 12.0 -14.0 cm ขึ้นไป เป็นระยที่ปูทะเลเพศเมียเริ่มเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ อวัยวะเพศเมียได้พัฒนาอย่างสมบูรณ์ ถ้าได้รับการผสมพันธุ์กับปูเพศผู้ รังไข่จะพัฒนา ภายในกระดอง ที่เรียกกันว่าไข่



ภาพที่ 1 ความ
เพศ

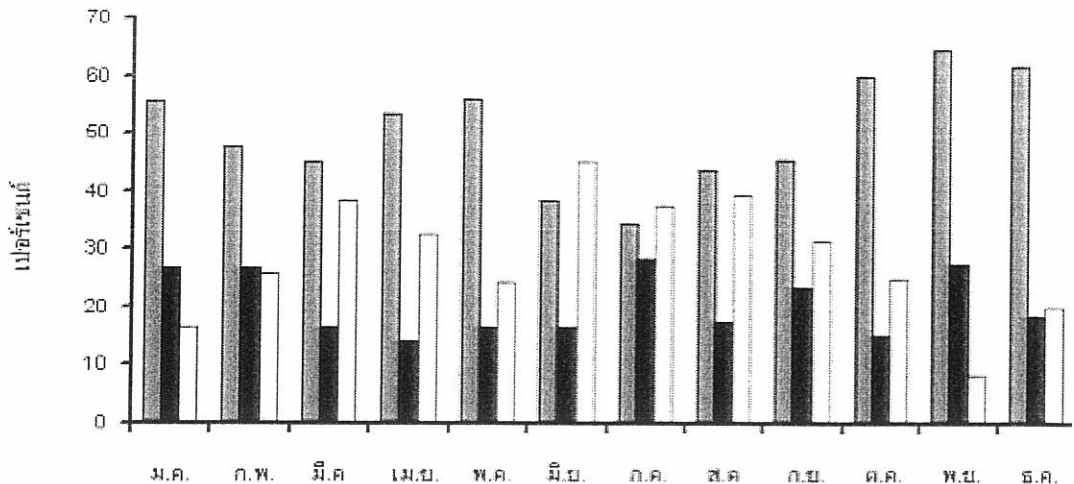


abdomen) ของปู

2.4 ลัด.....

ลัดส่วนเพศของปูทะเลเพศผู้และปูทะเลเพศเมียที่พบในธรรมชาตินั้นจะขึ้นอยู่กับวัย อายุ และฤดูผสมพันธุ์ ตามปกติในระยก่อนวัยเจริญพันธุ์จะพบปูเพศผู้มากกว่าปูเพศเมีย เช่นที่ คลองหวาง จังหวัดระนอง ลัดส่วนของปูทะเลเพศผู้:เพศเมียขนาดเล็กกว่า 8.0 cm ประมาณ 3.4 : 1 โดยไม่รวมจำนวนปูเพศเมียที่เพศยังไม่สมบูรณ์อีกประมาณ 1.6 ส่วน ส่วนปูขนาดระหว่าง 10.0 -15.0 cm จะมีอัตราส่วนของปูเพศผู้:ปูเพศเมียประมาณ 2 : 1 โดยไม่พบปูเพศเมียที่เพศไม่สมบูรณ์เลย (บรรจงและบุญรัตน์, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ปริมาณการกระจายตัวของตัวอ่อนในบริเวณน้ำกร่อยและบริเวณชายฝั่งในเขตน้ำขึ้น-น้ำลง ในเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2536

ใน
ปูทะเลเพศเมียจะ
ตุลาคม - ธันวาคม
ร้อยละ 10 ของ
แสมโกงกางจะอยู่
ต้นชายฝั่งและใน:
มกราคม-มีนาคม
ชายฝั่งและในป่า
อัตรส่วนระหว่าง

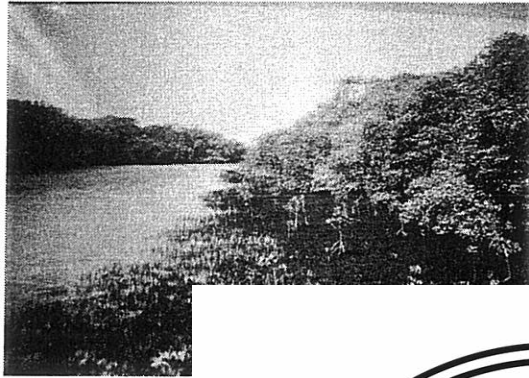


อยู่ระหว่าง 1:1-1:2
ายน ในเดือน
นน้อยมากไม่เกิน
ชายฝั่งและในป่า
โกงกางในบริเวณที่
ศเมียในช่วงเดือน
มีนาคมบริเวณที่ต้น
ายน-กรกฎาคม
ระบุณรัตน์, 2545)

3. แหล่งที่อยู่อาศัย

Le VAY (2001) พบว่าปูทะเลส่วนใหญ่จะพบอยู่บริเวณน้ำกร่อย และบริเวณชายฝั่งทะเลในเขตน้ำขึ้น-น้ำลง โดยทั่วไป ประชากรส่วนใหญ่จะอยู่ในป่าชายเลน โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณน้ำกร่อย ดังภาพที่ 3 Hill et al. (1982) ได้ทำการทดลองดูการกระจายตัวของประชากรปูทะเล พบว่า การกระจายตัวขึ้นอยู่กับการพัฒนาของระยะในระยะเวลา juvenile ที่มีความกว้างกระดอง 8 cm ขึ้นไป ส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณ intertidal flats ในขณะที่ subadult และ adult จะอาศัยอยู่บริเวณ subtidal และมีรายงานพบว่า *S. paramamosian* ระยะ juvenile ที่มีความกว้าง carapace 3-4 cm จะถูกจับได้บริเวณ intertidal flats (Le VAY, 2001) Keenan et al. (1998) กล่าวว่า ปูทะเล genus *Scylla* ทั้ง 4 สายพันธุ์ในระยะ larval และระยะ juvenile มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความทนทานต่อระดับความเค็ม โดยพบว่า *S. serrata* จะอยู่ได้ในมหาสมุทรที่มีความเค็มมากกว่า 34 ppt และในป่าชายเลนที่มีความเค็มสูงตลอดทั้งปี ส่วนสายพันธุ์ (*S. tranquebarica* และ *S. olivacea* และ *S. paramamosian*) จะอยู่ในทะเลซึ่งมีความเค็มต่ำกว่า 33 ppt ซึ่งสามารถอยู่ในบริเวณที่มีน้ำกร่อย ซึ่งมีความเค็มที่ต่ำเกิดขึ้นในบางฤดูกาล



ภาพที่ 3 ป่าชาย

4. การแพร่กระจาย

Le VA ตะวันตก ซึ่งแต่ลที่สุด และพบเพียงทางตอนใต้แปซิฟิก มหาสมุทรอินเดีย ทะเลจีนใต้ และท:



อินโด - แปซิฟิก
กระจายตัวมาก
และเกาะบริเวณ
ทะเลจีนใต้ไปถึง
หมู่จะอยู่บริเวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 การกระจายตัวของปูทะเลสายพันธุ์ *Scylla spp.*

Species	แหล่งที่พบการกระจายตัว
<i>S. serrata</i>	อินโด-แปซิฟิกตะวันตก:แอฟริกาใต้,ทะเลแดง,ออสเตรเลีย,ฟิลิปปินส์ , ญี่ปุ่น เกาะในแปซิฟิก (ฟูจิ ,เกาะโซโลมอน ,นิว คาเลโดเนีย ,ซามัวตะวันตก),ไต้หวัน
<i>S.paramamosian</i>	ทะเลจีนใต้ : กัมพูชา, เวียดนาม , สิงคโปร์ , จีน , ไต้หวัน ,ฮ่องกง , ทะเล จาวา กาลิมันตัน, จาวาตอนกลาง
<i>S.olivacea</i>	มหาสมุทรอินเดีย:ปากีสถาน -ออสเตรเลียตะวันตก, ทะเลจีนใต้,ไทย ,สิงคโปร์ เวียดนาม, มหาสมุทรแปซิฟิก, ฟิลิปปินส์, ชายฝั่งของการ์เพนทาเรีย
<i>S.tranquebarica</i>	มหาสมุทรอินเดีย , ปากีสถาน - มาเลเซีย , ทะเลจีนใต้ , สิงคโปร์ , ฟิลิปปินส์

ที่มา : Keenan ϵ

5. วงจรชีวิต

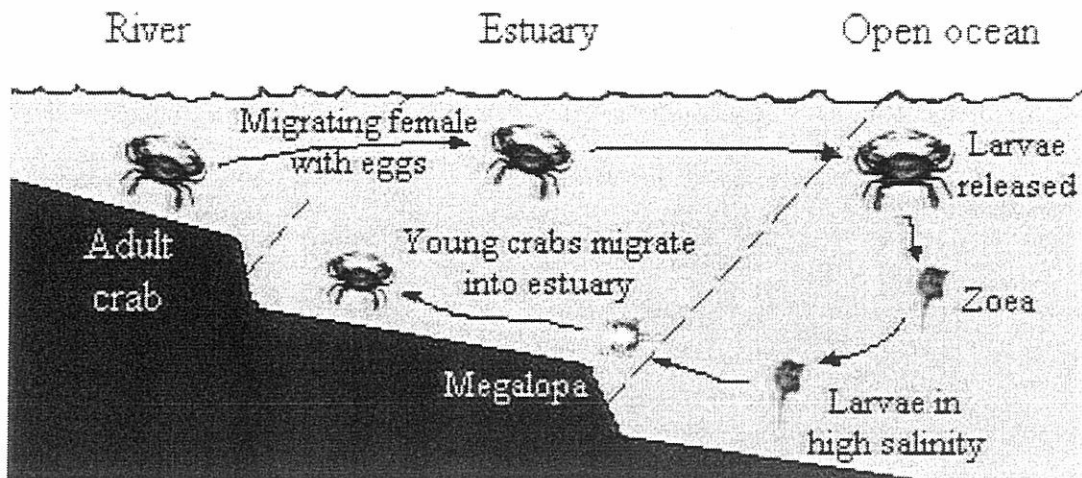
Williar
ฟอง หลังจากที
หน้านี้ Jose ϵ
ระยะ larva เป็น
เปลี่ยนระยะทุกค
ได้แก่ ระยะ Zoe
ระยะ Megalopa
ปูทะเล
อพยพเพื่อการแพ



ที่ 0.5 - 4 ล้าน
egalopa ซึ่งก่อน
cus ช่วงเวลาของ
Megalopa ซึ่งการ
rva) มีอยู่ 2 ระยะ
ย 5 ระยะจนเข้า
งไซในทะเล การ
ที่กำลังเดินทางสู่

ทะเลปูบางตัวอาจจะปล่อยไข่ออกมาไว้ที่จับปึงและเรียกกันโดยทั่วไปว่าปูไซนอกกระดอง
หลังจากไข่ออกเป็นตัวจะได้ลูกปูวัยอ่อน ซึ่งมี 2 ระยะ คือ ระยะ Zoea 1-5 ระยะ และ ระยะ
Megalopa โดยระยะ Zoea เป็นระยะที่รยางค์ว่ายน้ำยังไม่พัฒนาจึงต้องลอยไปตาม
กระแสน้ำ เมื่อตัวอ่อนเข้าสู่ระยะ Megalopa จะมีการว่ายน้ำสลับกับการหยุดเป็นครั้งคราวและ
ลูกปูระยะนี้เริ่มแพร่กระจายเข้ามาหากินในบริเวณชายฝั่ง เมื่อลูกปูลอกคราบอีกครั้งจะ
เปลี่ยนเป็นตัวปูที่มีลักษณะเหมือนพ่อแม่ทุกประการ เรียกว่าระยะ young crab ลูกปูระยะนี้จะ
หากินได้อย่างอิสระจนกระทั่งโตเต็มวัย และจะเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์และออกไปวางไข่ในทะเลเป็นวัฏ
จักรดังนี้เรื่อยไป (สุภาพ และ คณะ ,2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 วงจรชีวิต
ที่มา : www.serc

6. การเจริญเติบโต

6.1 ลัก

L

แตกต่างกันตาม
แอฟริกาใต้ จะ
เจริญที่รวดเร็ว แ
เจริญพันธุ์ที่ความ
มีความกว้างของ

Sc



การเจริญพันธุ์จะ
Australia และ
เป็นผลทำให้มีการ
เมียจะเข้าสู่ระยะ
paramamosain

สุด ซึ่ง ตัวผู้จะมี

ขนาดสูงสุด ซึ่งจะมีขนาดของ carapace 200 ถึง 200 mm ของ *S. paramamosain* ความ
กว้าง carapace 200 mm ของ *S. paramamosain* และ 180 mm ของ *S. olivacea* อัตรา
การเจริญของ *Scylla serrata* ในธรรมชาติจะรวดเร็วความกว้าง carapace ตั้งแต่ 12 ถึง 15
mm จนถึง 80 ถึง 160 mm และถ้าการเจริญที่ซึ่งจะมีความกว้าง carapace 140-180 mm
ในช่วง 3 ปี นอกจากนี้ Williams and Primaveva (2001) กล่าวว่า ขนาดที่เริ่มมีการทำการ
ประมงจะมีขนาด 150 g สำหรับท้องตลาดทั่วไปแต่ถ้าส่งออกจะมีขนาด 250 g

ปูทะเลในเขตร้อนจะใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตจนถึงขั้นสมบุรณ์เพศประมาณ
1.5 ปี ฤดูกาลผสมพันธุ์และวางไข่ สำหรับฤดูกาลวางไข่ผสมพันธุ์ ของปูทะเลนั้น อยู่ในช่วง เดือน
กันยายน-ธันวาคม และพบแม่ปูจะมีไข่ในระหว่างเดือน กันยายน-ตุลาคม ปูทะเลสามารถวางไข่
ได้ตลอดทั้งปีโดยจะวางไข่ชุกชุมที่สุดในระหว่างเดือน สิงหาคม-ธันวาคม ไข่ของปูทะเลจะมีสีส้ม
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แดงซึ่งถูกปล่อยออกมาจากกระดองบริเวณใต้จับปีงโซ่นอกกระดองของปูทะเลมีน้ำหนัก ประมาณ 45.33 g มีจำนวนประมาณ 1,863,859 ฟอง โดยเฉลี่ยแล้วปูทะเลโตเต็มที่ตัวหนึ่งจะมีไข่จำนวน ประมาณ 2,228,202 - 2,713,858 ฟอง (บรรจงและบุญรัตน์,2545)

6.2 การลอกคราบ

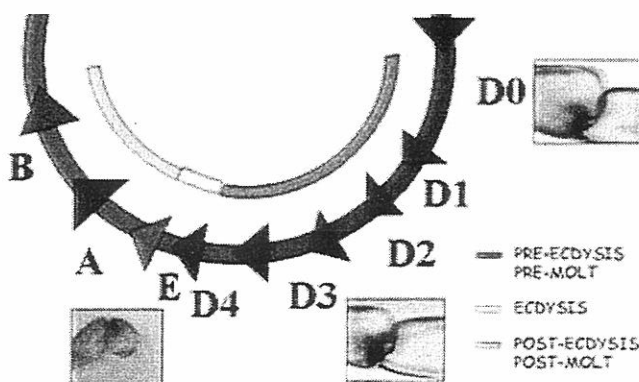
ในการเจริญเติบโตของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียรวมทั้งปูทะเล ซึ่งสัตว์กลุ่มนี้มี โครงสร้างแข็งแรง ห่อหุ้มร่างกายอยู่ภายนอก (exoskeleton) ทำให้เป็นอุปสรรคที่สำคัญต่อการ เพิ่มและขยายขนาดของร่างกาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยกระบวนการลอกคราบ (molting) เพื่อช่วยให้มีการเติบโตในแต่ละครั้ง

ปูทะเลเจริญเติบโตโดยอาศัยการลอกคราบ สลารประกอบพวกหินปูนที่มีความแข็งแรงมาก จึงไม่สามารถยืดขยายตัวออกไปได้ เมื่อเจริญเติบโต เต็มที่ คือ มีเนื้อแ ต้ว) โดยการสร้าง ของปู เมื่อปูทะเล จะค่อย ๆ ตึงแล เคลื่อนไหวไม่ได้ กระทั่งกระดองไห วัน

ปูทะเลเจริญเติบโตโดยอาศัยการลอกคราบ

เนื่องจากกระดองของปูเป็น

น้ำหนักและขนาด มมากขึ้นตามอายุ 1 "ปูนิ่ม" ซึ่งต่อมา ากที่สุด แทบจะ าราบหลบซ่อนจน เวลาประมาณ 7



ภาพที่ 5 วงจรการลอกคราบ

ที่มา: www.serc.si.edu/.../bluecrab/molting.jsp

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อปูจะลอกคราบ สังเกตได้จากกระดองจะเริ่มแยกจากเยื่อหุ้มตัว ระยะเวลาที่ชาวบ้านเรียกว่า “ปูลอกกระดอง” เป็นระยะที่ปูเคลื่อนไหวได้ช้า ระยะเวลาที่สารประกอบของปูและChitin ที่มีอยู่ในเปลือกเก่า ส่วนหนึ่งจะถูกดึงไปใช้ในการสร้างเปลือกใหม่ เปลือกเดิมจึงเปราะ ระยะเวลาที่ความดันภายในตัวปูจะเพิ่มขึ้น ถ้าเจาะกระดองให้เป็นรูเยื่อหุ้มตัวจะปูดทะลักออกมาตามรอยเจาะ เมื่อความดันของเลือดภายในตัวได้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งก็จะดันให้เปลือกเก่าแตกออกตามรอยประสานได้เชิงกระดอง และที่โคนก้าม ระยะเวลาที่ปูจะผลิตน้ำเมือกออกมาหล่อเลี้ยงผนังเยื่อหุ้มตัว เพื่อช่วยให้ร่างกายต่าง ๆ สามารถลอดข้อต่อต่าง ๆ จากเปลือกเดิมได้ง่ายขึ้น ปูจะจะสลัดตัวเองจากคราบเก่าด้วยวิธีใช้หลังดันกระดองด้านบน เพื่อให้กระดองส่วนบนตรงรอยต่อระหว่างส่วนหัวและอกกับท้องจะแยกออกจากนั้นปูจะค่อย ๆ ดันตัวออกมาทีละน้อย ๆ โดยมีขาที่หลังหรือกรรเชียงออกมาก่อน เมื่อร่างกายส่วนนั้นได้ปรับส

ก้ามเป็นร่างกายคู่
ความเข้มข้นของ
เพิ่มขนาดตามส่ว
ชอนคัตรู ระยะเวลา
สะสมอาหารไว้ให้
ๆ ประกอบด้วย :

ประกอบด้วยรงค์
membrane)



ๆ ตามมา โดยมี
จากที่ปูปรับระดับ
จะค่อย ๆ ดึงและ
จึงต้องหาที่หลบ
หลังจากนั้นปูเริ่ม
ถแบ่งออกเป็นชั้น

ชดลมี

ฐาน(basement

ชั้น โดยมีชั้นเม็ด

สี (pigmental layer) ขยู่บนสุดติดกับชั้นเคลือบผิว และชั้นเยื่อ (membranous membrane) อยู่
ล่างสุดติดกับเซลล์ epithelium โดยมีชั้นหินปูน อยู่ตรงระหว่างกลาง

3) ชั้นเคลือบผิว (epicuticle) เป็นเปลือกที่อยู่ชั้นนอกสุด ประกอบด้วยไลโป
โปรตีน(lipoprotein)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูทะเล

7.1 การจับคู่และการผสมพันธุ์

การผสมพันธุ์ของปูทะเลเป็นการผสมภายใน (internal fertilization) ปูเพศเมียที่จะเริ่มผสมพันธุ์เมื่อมีความสมบูรณ์เพศในขั้นที่ 3 หรือ อยู่ในช่วงสุดท้ายของความสมบูรณ์เพศขั้นที่ 2 เมื่อลอกคราบแล้วก็จะปูที่มีความสมบูรณ์เพศขั้นที่ 3 ในช่วงฤดูผสมพันธุ์ ปูเพศเมียจะมีพฤติกรรมก้าวร้าว ดู และจะปล่อยฮอร์โมนเพศ (pheromone) ออกมาเพื่อกระตุ้นให้ปูเพศสนใจ การช่วยของปูเพศเมียทำให้ปูเพศผู้มีปฏิกิริยาตอบสนองโดยแสดงอาการปกป้องตัวเอง และได้ตามปูเพศเมียเป็นระยะ ๆ เมื่อได้จังหวะปูเพศผู้จะขึ้นคร่อมและใช้ปลายเดินคู่ที่ 2-4 (pereopods) พยุงปูเพศเมียไว้ข้างล่างโดยปูเพศเมียไม่ขยับขึ้น ช่วงนี้ในเวลากลางวันปูเพศผู้จะเกาะปูเพศเมียและจะพาปูเพศเมียไปด้วยตลอดเวลา แต่จะแยกออกจากกันในตอนเย็นใกล้ค่ำ การจับคู่ในลักษณะนี้ จะทำติดต่อกันปร

ปูเพศผู้จะช่วยพิน
นิมปูเพศผู้จะจับ
เพื่อสอดอวัยวะสืบ
เมีย (gonopore) :
หน้าที่ยึดให้หน้าทำ
ประสิทธิภาพยิ่งขึ้น
เมื่อได้จังหวะปูเพ
อยู่ตอนปลายสุดข
ชั่วโมง น้ำเชื้อในถ
น้ำเชื้อจากปูเพศผู้
ประมาณ 2-3 วัน



สเมียลอกคราบ
ณะที่กระดองยัง
แข็งของปูตัวเมีย
เปิดของปูเพศ
นามที่โคนจะทำ
งพันธุ์มี
งนิมเป็นอันตราย
receptacle ซึ่ง
ประมาณ 12-15
เคเมียเมื่อได้รับ
ังปูเพศเมียอีก
ปูเพศเมีย

หลังจากได้รับน้ำเชื้อจากปูเพศผู้แล้วก็จะเริ่มสร้างไข่ (บรรจงและบุญรัตน์, 2545)

7.2 การพัฒนาของรังไข่

เมื่อปูเพศเมียได้รับน้ำเชื้อจากปูเพศผู้แล้ว ไข่จะเริ่มพัฒนาเป็นระยะ ๆ การพัฒนาของไข่ปูทะเลพอจะแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาไข่จากระยะที่ 1 จนถึงระยะที่ 4 สำหรับปูดำใช้เวลาประมาณ 55 วัน ส่วนปูขาวที่ความเค็ม 15 - 28 ppt อุณหภูมิระหว่าง 28.5 - 36.0 °C จะใช้เวลาประมาณ 40 - 47 วัน รังไข่แต่ละระยะจะมีลักษณะ ขนาด และสีต่างกัน ดังตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ลักษณะ ขนาด และสี ของไขปูทะเลในระยยะต่าง ๆ

ระยยะ	ลักษณะ	ขนาดและสี
ระยยะที่ 1	เป็นเส้นยาวแบน 2 เส้นแทรกตัวอยู่ในช่องว่างภายในลำตัว ตามขอบกระดองด้านหน้า บน digestive gland	ขนาดเล็กมาก ประมาณ 1-2 % ของช่องว่างภายในลำตัว สีขาว โปร่งใส
ระยยะที่ 2	เส้นแบนขอบมีรอยหยักแทรกตัวติดอยู่กับ sterno carapace บน digestive gland	ขนาดขยายใหญ่ขึ้น ประมาณ 10-20% ของช่องว่างภายในลำตัว สีครีม สีขาวนม
ระยยะที่ 3	รังไข่เริ่มขยายตัว ขดไปตามตามลักษณะของช่องว่างเห็นชัด	ขนาดขยายประมาณ 20-75% ของ ล้อมเหลือง เหลือง
ระยยะที่ 4	ไข่สมบุลำตัว ีคลายสชัดเจน	นลำตัว ถ้าเป็นปูเหลืองถึงส้มแดง เหลืองอ่อน



ที่มา : สุรชาติและ

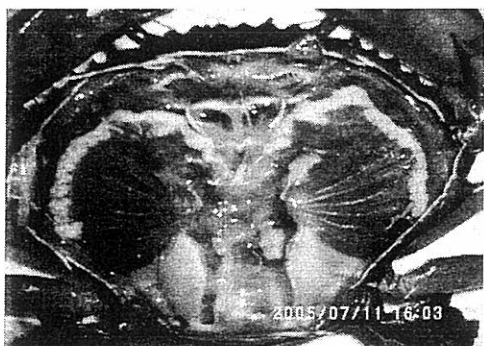
ระยยะที่

เส้นแทรกอยู่ในช่อง

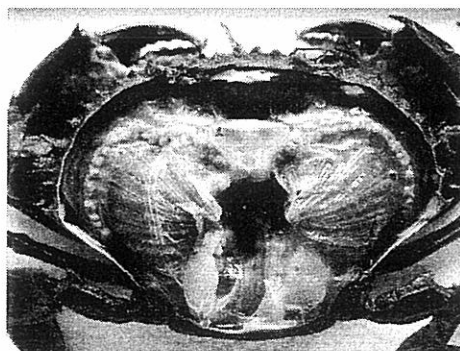
มีขนาด 1/6 ช่องว่าง

ในเส้นยาวแบน 2

and ระยยะนี้รังไข่



Scylla olivacea

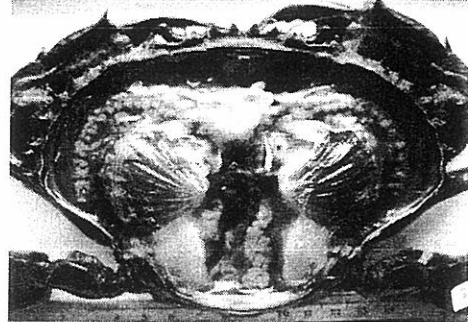
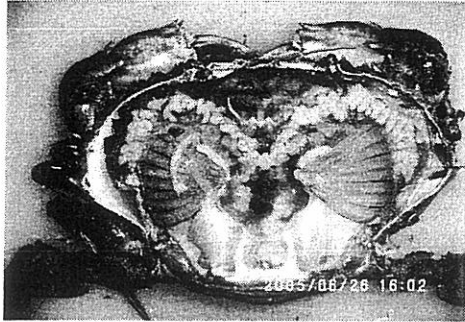


Scylla paramamosian

ภาพที่ 6 ระยยะการเจริญของรังไข่ปูทะเลระยยะที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะที่ 2 (Early development stage) : รังไข่ขยายใหญ่ขึ้นประมาณ 10 - 20% ของช่องว่างภายในลำตัว มีรอยหยักแทรกตัวติดอยู่กับ stero carapace บน digestive gland สีครีมหรือเหลืองอ่อนหรือชมพู



Sc

ian

ภาพที่ 7 ระยะก

ระยะ
ภายในลำตัวคล

ษณะของช่องว่าง



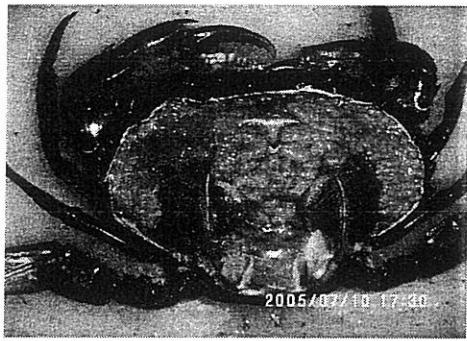
S

ian

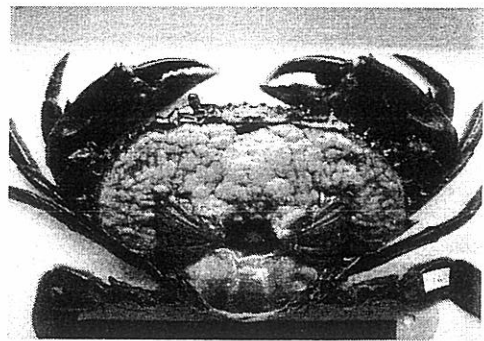
ภาพที่ 8 ระยะการเจริญของรังไข่ปูทะเลระยะที่ 3

ระยะที่ 4 (Ripe stage) : รังไข่สมบูรณ์เต็มที่ แน่นเต็มช่องว่างภายในลำตัว ผิวมันวาวมองจากด้านบนรูปร่างคล้ายสมอเรือ ไข่แยกเป็นเม็ด ถ้าเป็นปูดำไข่ในระยะนี้จะมีสีส้มเหลืองถึงส้มแดงถ้าเป็นปูขาวรังไข่จะมีสีเหลืองอ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Scylla olivacea



Scylla paramamosian

ภาพที่ 9 ระยะการเจริญของรังไข่ปูทะเลระยะที่ 4

ไข่เมื่อ

ถูกส่งออกมาทาง
ยี่ดไข่ไว้กับขนขอ
จะหดเหลือประม
ขรุขระ ไม่เป็นมัน
นอกกระดอง (B
สองชนิด คือ ฮอ:
กระตุ้นให้ไข่พัฒนา
ส่วนกลาง (Neur
(X-organs) และ
ไปทางก้านตา ส:
GIH ในเลือดดี



(Proecdysis stage) หรือเนระยะทบเบลอกแขงบลาย ๆ (intermolt stage D-3) ระดับของ
ฮอริโมนGIH ในเลือดปูจะเริ่มลดน้อยลง วาย-ออร์แกนจะถูกกระตุ้นให้ผลิต GSH เข้าในระบบ
เลือด เพื่อพัฒนารังไข่ (บรรจงและบุญรัตน์,2545)

ับ sperm แล้ว จะ
สารเหนียวออกมา
องรังไข่ในกระดอง
งน ผิวของไข่เหี่ยว
บั้งนี้เรียกว่าปูไข่
บคุมของฮอริโมน
(IH) และฮอริโมน
อริโมนที่ประลาท
ทางเอกซ์ออร์แกน
มันับจากลูกตาดำ
เมื่อระดับฮอริโมน
ก่อนลอกคราบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. องค์ประกอบของโปรตีนที่ประกอบอยู่ใน haemolymph ของสัตว์ในกลุ่ม crustacean

8.1 Haemocyanin

Haemocyanin เป็นสารที่ประกอบในระบบหายใจ ซึ่งมีประมาณ 60-93% และ 64-84 % ของโปรตีนทั้งหมดใน haemolymph ในปูทะเล (Chen and Chia, 1997) Yoganandhan (2003) พบว่า ใน haemolymph ของ crustacean พบ haemocyanin ประมาณ 80-95% จากโปรตีนทั้งหมด

Roberto *et al.* (2002) พบว่า haemocyanin เป็นโปรตีนที่มี copper (Cu) เป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นตัวที่ขนส่งออกซิเจนและเก็บออกซิเจนใน mollusca และ arthropod บางสายพันธุ์ นอกจากนั้น Sellos *et al.* (1997) พบว่า haemocyanin ประกอบด้วยกรดอะมิโน 600 - 660 ตัว มีน้ำหนักโมเลกุล 4.5×10^5 Da (Dalton) ซึ่งจะพบในกลุ่ม primitive crustacean เป็นส่วนใหญ่ เช่น

แรกของ haemolymph เกี่ยวข้องกับกระบวนการ enzyme Zhan 73 และ 75 kDa

Ally haemolymph ของออกซิเจน นอก reagent บางตัวทำหน้าที่ในการก มีหน้าที่หลักในการกระบวนการหายใจ



กนั้นหน้าที่อันดับหน้าที่หลายอย่างและกิจกรรมของว ที่มีมวลโมเลกุล

โปรตีนกลุ่มใหญ่ในเล็กๆ ในการขนส่ง enoloxidase โดย l sulfate (SDS) aemocyanin ยังเิมสารตัวกลางใน

Yoganandhan *et al.* (2003) พบว่าจำนวนของ haemocyanin ใน haemolymph หากมีความเข้มข้นของ haemocyanin มากพอที่จะลดการจำลองตัวของไวรัส (Replication) ทำให้เชื้อไวรัสไม่เพิ่มจำนวนมากขึ้นที่จะส่งผลต่อสัตว์น้ำจนเชื้อไวรัสหมด แต่ถ้ามีความเข้มข้นของ haemocyanin ไม่มากพอจะทำให้กุ้งที่ติดเชื้อตายได้ ซึ่งถ้ามีความเข้มข้นของ haemocyanin อยู่ในระดับต่ำก็จะทำให้ปริมาณของออกซิเจนลดลงตามลำดับ เนื่องจากคอปเปอร์ที่ประกอบอยู่ใน haemocyanin เป็นตัวจับและขนส่งออกซิเจนไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ถ้ามีน้อยก็จะส่งผลต่อสัตว์น้ำโดยทำให้สัตว์น้ำอ่อนแอ เครียด และมีภูมิคุ้มกันโรครดต่ำ นอกจากนั้น haemocyanin ยังทำให้การเจริญเติบโตของไวรัส ใน cell line ของปลา ไม่เหมาะสมจึงทำให้ปริมาณของไวรัสลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.2 Vitellogenin

ดวงใจ (2543) พบว่า Vitellogenin เกิดขึ้นในระยะ vitellogenesis เป็นระยะที่มีการสร้างและสะสมไข่แดง ซึ่งมีการเคลื่อนที่ของสารภายในนิวเคลียสออกสู่ไซโตพลาสซึม ระยะ vitellogenesis เป็นกระบวนการสำคัญซึ่งเกิดขึ้นระหว่างการเจริญของไข่ ในสัตว์กลุ่มครัสเตเชีย ซึ่งไม่มีไซโทพลาสซึมที่มีไข่แดงสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึมของโอโอไซต์จำนวนมาก

กระบวนการสร้างและสะสมไข่แดง หรือ ไวเทลโลเจนิซิน (vitellogenesis) เป็นกระบวนการที่สำคัญซึ่งเกิดขึ้นระหว่างการเจริญของไข่ (oocyte) ในสัตว์กลุ่มครัสเตเชีย ซึ่งไม่มีไซโทพลาสซึมที่มีไข่แดงสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึมของโอโอไซต์จำนวนมาก (polylecithal egg) ไข่แดงประกอบด้วย น้ำ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และสารอาหารอื่นๆ ที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเอ็มบริโอ ส่วนประกอบของไข่แดงจะแตกต่างกันไปในสัตว์แต่ละชนิด โปรตีนหลักที่สะสมในระหว่างกระบวนการ

(Lipovitellin) ไวเทลโลเจนิซิน (vitellogenin) ที่รังไข่มีการเจริญ การเจริญเท่านั้น ไวเทลโลเจนิซินของไข่ (heterosynthetic adipose tissue) และถูกนำเข้าสู่ส



หรือ ไลโปไวเทลลิน ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน โมเลกุลอยู่ ครัสเตเชียขณะ เรียกว่าไวเทลโลเจนิซิน) ที่รังไข่กำลังมี ศึกษาแหล่งสร้าง แหล่งอื่นนอกวัง (subepidermal) ออกสู่กระแสเลือด ลิน

Ra

เงินของปูทะเล

Scylla serrata ซึ่งเป็นการศึกษาแบบ *in vivo* โดยใช้ ¹⁴C phenylalanine เป็นตัวติดตามการสร้างไลโปไวเทลลินในเนื้อเยื่อรังไข่ เนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนัง เนื้อเยื่อตับ- ตับอ่อน และเลือด โดยเก็บเลือดและเนื้อเยื่อต่างๆมาตกตะกอนโปรตีนโดยใช้ trichloroacetic acid จากนั้นนำโปรตีนไปแยกใน 3-MM Whatman chromatography paper disc (filter-paper disc method) และตรวจวัด isotope บนกระดาษโดย Liquid Scintillation Counter พบว่าเนื้อเยื่อรังไข่ เนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนัง และเนื้อเยื่อตับ- ตับอ่อน สามารถสร้างไวเทลโลเจนิซินได้โดยขณะที่รังไข่มีการเจริญอยู่ในระยะที่ 1 พบว่าเนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนัง และ เนื้อเยื่อตับ- ตับอ่อน มีการสร้างไวเทลโลเจนิซินในระดับที่สูงกว่าในรังไข่ ในการเจริญของรังไข่ในระยะที่ 2 ระดับของ ¹⁴C phenylalanine ในรังไข่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก ในขณะที่ในเลือดมีระดับ ¹⁴C phenylalanine ลดลง ดังนั้นจึงสรุปว่าเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อเยื่อไขมันใต้ผิวหนัง และ เนื้อเยื่อตับ-ตับอ่อน มีบทบาทในการสร้างและส่งมาตามกระแสเลือด เพื่อเข้าสะสมเป็นไวเทลลินในรังไข่

Tsutsui *et al.* (2000) ได้ติดตามแหล่งสร้างไวเทลโลเจนิใน *Penaeus japonicus* โดยวิธี Northern blot และ *in situ* hybridization ด้วย mRNA ของไวเทลโลเจนิของกุ้งชนิดนี้ และได้แบ่งระยะการเจริญของรังไข่ตามค่าดัชนีรังไข่ (GSI) ดังนี้ GSI เท่ากับ 0.2-0.5 % เป็นระยะ previtellogenesis (ระยะที่ 1) , GSI เท่ากับ 1.2-3.7% เป็นระยะ early exogenous vitellogenesis (ระยะที่ 2) , GSI เท่ากับ 4.4-7.2 % เป็นระยะ late exogenous vitellogenesis (ระยะที่ 3) และ GSI เท่ากับ 7.7-8.9 % เป็นระยะ late exogenous vitellogenesis (ระยะที่ 4) พบ mRNA ที่ code ไวเทลโลเจนิทั้งในเซลล์ฟอลลิเคิล และเซลล์ของตับ-ตับอ่อนของกุ้งเพศเมีย ที่อยู่ในระยะที่มีการสร้างและสะสมไวเทลลิน (vitellogenic female) และระดับของ mRNA ที่พบในรังไข่มีค่าสูงที่:

ตับอ่อนปริมาณ แสดงว่ากุ้งชนิดนี้

8.

ในคริสต์ตาเขียน

competitive ELISA *Metapenaeus* ชนิดที่จำเพาะต่างกันในเวลาต่าง ในแต่ละตัวอย่าง ตรวจหาปริมาณไ



4 ในขณะที่ในตับ-ลดลงในระยะที่ 4 ตับอ่อนเจริญของรังไข่

ความแน่นอนของวิธี าวเลือดกุ้งตะกาด :LISA โดยใช้แอน ะภาค ELISA ที่ มีค่าใกล้เคียงกัน นจึงเชื่อว่าวิธีที่ใช้ วมมากพอสมควร

หลังจากนั้นได้ศึกษาระดับไวเทลโลเจนิในเลือดกับการเจริญของรังไข่ของกุ้งตะกาด *Metapenaeus affinis* ด้วยวิธี competitive ELISA พบว่าไวเทลโลเจนิมีปริมาณต่ำในกุ้งที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1 (0.193 ± 0.167 mg/ml) แต่จะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆในระยะที่ 2-3 (2.343 ± 0.906 ถึง 2.673 ± 0.951 mg/ml) และในระยะที่ 4 ซึ่งเป็นระยะก่อนวางไข่ระดับไวเทลโลเจนิจะลดลง (0.708 ± 0.508 mg/ml) และผลจากการฉีดสารสกัดจากก้านตาให้กุ้งที่ถูกตัดตาทั้งสองข้างจะชักนำให้ระดับไวเทลโลเจนิในเลือดเพิ่มสูงขึ้นและค่อยๆลดลงด้วยอัตราเร็วต่างกันจนถึงระดับต้นภายใน 24 ชั่วโมง Qunitio *et al.* (1994) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ steroid hormone และปริมาณไวเทลโลเจนิระหว่างการเจริญของรังไข่ของกุ้งกุลาดำ *P. monodon* โดย วัดฮอร์โมนในเลือดรังไข่ และตับ - ตับอ่อน โดยวิธี radioimmunoassay (RIA) และ วัดไวเทล เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไลโปเจนนินในเลือด โดยวิธี single radial immunodiffusion ซึ่งใช้ระยะเวลาการเจริญของรังไข่เป็นหลัก โดยได้แบ่งการเจริญของรังไข่ออกเป็น 6 ระยะ พบว่าปริมาณไวเทลโลเจนนินในเลือดสามารถวัดได้ในระยะเวลาการเจริญของรังไข่ระยะที่ 3 (0.441 mg/ml) และมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นในระยะที่ 4 (2.640 mg/ml) และ ระยะที่ 5 (6.973 mg/ml) จากนั้นลดลงมีค่าเท่ากับ 2.546 mg/ml หลังจากที่ถูกวางไข่ Chang and Shih (1995) ศึกษาปริมาณไวเทลโลเจนนินในเลือดระหว่างการเจริญของรังไข่ของกิ้งก่ามกราคม *M. rosenbergii* โดยเทคนิค ELISA ซึ่งได้แบ่งระยะเวลาการเจริญของรังไข่ออกเป็น 5 ระยะ พบว่าปริมาณไวเทลโลเจนนินเริ่มวัดได้ตั้งแต่ระยะที่ 1 (1.82 mg/ml) และเพิ่มขึ้นในระยะที่ 2 (2.12 mg/ml) หลังจากนั้นจะมีระดับคงที่อยู่ในระดับนี้จนถึงระยะที่ 4 (ระยะที่ 3 มีค่าเท่ากับ 2.05 mg/ml; ระยะที่ 4 มีค่าเท่ากับ 2.48 mg/ml) และมีระดับลดลงในระยะก่อนกิ้งวางไข่หรือกำลังวางไข่ (ระยะที่ 5 มีค่าเท่ากับ 1.42 mg/ml)

8.3 Lip

Le crustacean ก็คือ crustacean ซึ่ง hepatopancreas blue crab จะเป็ lipovitellin ซึ่งจะ phospholipid triacylglycerols A (107,000 Da) เป็น lipoprotein นอก



ฆนาของรังไข่ของ Lipovitellin ใน นปูและกึ่งบริเวณ in ใน ovary ของ globular shape protein 50% ปริมาณจะต่ำกว่า ซึ่งก็คือ peptide lue crab จะแยก ด้วย กระจุกสั้นหลังใน

ทะเลและมีเม็ดไขมันสะสมอยู่ ซึ่งไขมันที่สะสมไว้จะใช้ในระหว่างการพัฒนาของ embryo

ความเข้มข้นของ lipovitellin ในการพัฒนาของ oocytes หลังจากที่ถูกเพศเมียเจริญเติบโตจะลอกคราบเข้าสู่ระยะ adult ซึ่งขนาดของรังไข่จะเพิ่มขนาดขึ้นต่อจากนั้นอีก 50 ถึง 70 วัน พัฒนาจนกระทั่ง oocytes มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 250 μm ดังในตารางที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นของโปรตีน, Lipovitellin, เม็ดไขมัน, ไขมัน

จำนวนวัน	เส้นผ่า	โปรตีน	ความเข้มข้นของ	ไขมัน	เม็ดไขมัน
หลังจาก	ศูนย์	ng/oocyte	lipovitellin	ng/oocyte	ng/oocyte
การลอก	กลางของ		ng/oocyte		
คราบ	oocyte				
	(μm)				
10	40 \pm 11	70 \pm 22	0.05 \pm 0.03	15 \pm 7	ND
14	60 \pm 15	150 \pm 46	1.1 \pm 0.5	29 \pm 5	ND
19	90 \pm 12	360 \pm 29	3.0 \pm 2.0	110 \pm 12	ND
25	100 \pm 20	500 \pm 80	7.0 \pm 1.5	200 \pm 25	30 \pm 17
30	210 \pm 30	1000 \pm 150	15.0 \pm 2.0	400 \pm 40	140 \pm 22

ที่มา: Lee and V

Lee
เวลา 30 วัน ห
ของ oocytes
เส้นผ่าศูนย์กลาง
ระหว่าง 14 ถึง 30
มีเส้นผ่าศูนย์กลาง
ที่ 25 วัน oocy
78 \pm 15 ng/oocy



น oocytes เป็น
สูงสุดท้าย ขนาด
น oocytes มี
0.03 ng/oocyte
นที่ 19 oocytes
ng/oocyte โดย
ของ lipovitellin

Lee *et al.* (1996) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของรังไข่กับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ vitellogenin ใน haemolymph ของปูม้า พบว่า การเจริญของรังไข่ระยะที่ 1 และ ระยะที่ 2 ไม่สามารถตรวจวัดปริมาณ vitellogenin ได้ แต่จะเริ่มวัดได้ในระยะที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 3 - 6 ซึ่งปริมาณ vitellogenin ที่ตรวจวัดได้จะมีปริมาณต่ำ และจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น จากการศึกษาการเจริญของรังไข่โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี แสดงให้เห็นว่าในช่วงการเจริญของรังไข่ในระยะที่ 1 และระยะที่ 2 จะไม่เกิดปฏิกิริยาทางอิมมูโนของ vitellin แต่จะพบในช่วงที่รังไข่เจริญในระยะที่ 3 - 6 และไม่พบปฏิกิริยาทางอิมมูโนของ vitellin ในส่วนของ hepatopancreas ซึ่งจากการศึกษาดังกล่าวให้ผลสอดคล้องกันคือ ปูม้า *Callinectes sapidus* มีการสร้าง vitellin ภายในรังไข่เอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lee and Watson (1995) ศึกษาแหล่งสร้างไวเทลลินของปูม้า *Callinectes sapidus* โดยนำเนื้อเยื่อรังไข่ ตับ - ตับอ่อน และเหงือกมาป้อน ^{35}S methionine จากนั้นนำเนื้อเยื่อไปสกัด และตรวจสอบคุณลักษณะ โดย SDS-PAGE , Western blotting และ autoradiography พบว่ารังไข่เป็นแหล่งสร้างไวเทลลิน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการ
อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. เครื่องมือผ่าตัด
2. เข็มฉีดยาขนาด 1 ml เบอร์ 23 G
3. Vial ขนาด 50 ml
4. หลอดเก็บเลือด (microcentrifuge tube)
5. บีกเกอร์ 50 ml
6. Refractometer
7. Micropipette
8. Micropip
9. หลอดทดสอบ
10. เครื่องเซ
11. Magneti
12. เครื่องชั่ง
13. Spectro
14. น้ำกลั่น
15. กรวยกรจ
16. Vacuum
17. Polyacry
18. Power su



Oxi,USA

สารเคมี

- | | |
|--|--------------|
| 1. Coomassie Brilliant Blue G-250 | :BDH |
| 2. Phosphoric acid 85% | :MERCK |
| 3. Formalin | :MERCK |
| 4. Sodiumcitrate | :MERCK |
| 5. ethanol 95% | :MERCK |
| 6. Ammonium persulfate | :Promega,USA |
| 7. Tetramethylethylene-diamine (TEMED) | :Promega,USA |
| 8. Tris(hydroxymethyl) aminomethane | :Sigma |
| 9. Glycerol | :Sigma |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. BSA (Bovine serum albumin)	:Starrate
11. Acrylamide	:BIO BASIC INC.
12. Bis (N,N'-methylene-bis-acrylamide)	:Sigma
13. SDS (sodium dodecyl sulfate)	:BDH
14. 2- Mercaptoethanol	:BDH
15. Methanol	:MERCK
16. Acetic acid	:MERCK
17. Glycine	:Research Organic
18. Hydrochloric acid	:MERCK

1. สัตว์ทดลอง

ปู
ต่างๆของฝั่งอ่าวใต้
สตูล



icea จากแหล่ง
จังหวัด ตรัง และ

2. ศึกษาลักษณะ:

- 2.1 นำ
- 2.2 บัน
- 2.3 ชั่ง
- 2.4 วัด

อที่จะคำนวณหา

ค่า FMI (Female maturity index)

FMI=ความกว้างของจับปิ้งปล้องที่5/ความกว้างโคนขา

เดินคู่ที่ 5 และ บันทึกลงผล

3. การเก็บตัวอย่างเลือดของปูทะเล

3.1 ผ่าเปิดกระดองด้าน dorsal

3.2 ใช้ syringe ขนาด 1 ml และ เข็มฉีดยาเบอร์ 23 G เคลือบด้วย Sodium citrate

เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือดดูดเลือดจากบริเวณหัวใจ(pericardialcavity)เก็บใน

microcentrifuge tube นำไปเก็บที่อุณหภูมิ - 20 °C เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนและการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของโปรตีน นำเลือดอีกส่วนที่เหลือมาบรรจุในหลอด capillary เพื่อเปรียบเทียบสีของเลือดและใช้เลือดอีกส่วนวัดค่าการหักเหของแสงด้วย Refractometer

3.3 ศึกษาาระบบสืบพันธุ์และอวัยวะที่เกี่ยวข้องโดย

3.3.1 จำแนกระยะการเจริญของรังไข่ตามวิธีของ Quinn and Kojis (1987) บันทึกสีของรังไข่และสีของ hepatopancreas

3.3.2 บันทึกภาพปูทะเลที่ผ่าตัดเปิดกระดอง

3.3.3 ผ่าตัดแยกรังไข่ และ hepatopancreas ชั่งน้ำหนักรังไข่ และ hepatopancreas

3.3.4 นำค่าน้ำหนักรังไข่และน้ำหนัก hepatopancreas มาคำนวณหาค่า GSI (Gonad somatic index) $GSI = \frac{\text{น้ำหนักรังไข่} \times 100}{\text{น้ำหนักตัว}}$

4. การวิเคราะห์ห

4.1 ี

Bradford techni

4.2 ี

standard curve

4.3 ี

4.4 ี

ปริมาณโปรตีนใน ตัวอย่างหน่วยเป็น



ะยะต่างๆ

เลือดปูทะเลโดยใช้

10 µg/ml เพื่อทำ

5 nm

d curve เพื่อหา

content ในเลือด

5. การศึกษาการเ

5.1 ใช้เทคนิค Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) และ Sodium dodecyl sulfate- Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

5.2 ภายหลังการ run electrophoresis และย้อมด้วยสี Coomassie Brilliant Blue G-250 และ Destain เพื่อล้างสีในเจลส่วนที่ไม่มีโปรตีนออกแล้ว นำแผ่นเจลมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงแถบโปรตีนที่เกิดในเลือดที่มีรังไข่ระยะต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้ในการจำแนกระยะการเจริญของรังไข่ของปูทะเล (*Scylla spp.*)

จากการศึกษาระยะการเจริญของรังไข่ปูทะเล (*Scylla spp.*) ที่จับจากธรรมชาติโดยวัดขนาดความกว้างของกระดอง, ชั่งน้ำหนัก และ การทดลองผ่าปูทะเลเพศเมียเพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพ ซึ่งประกอบด้วย สี, GSI (Gonad somatic index), FMI (Female maturity index), ค่าหักเหแสง และ ค่าดูดกลืนแสง ของเลือดปูทะเลเพศเมีย สีของเลือดปูทะเล (*Scylla spp.*) จากการทดลองพบว่าสีของเลือดจะมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะการเจริญของรังไข่ซึ่งที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1 เลือดจะมีสีน้ำเงินเทาๆ เนื่องมาจากว่าในเลือดของปูทะเลจะประกอบไปด้วย hemocyanin ซึ่ง

ขณะที่รังไข่เจริญ hemocyanin ปริมาณในเลือดของ $\pm 0.01 \text{ mg/ml}$ และ จะเพิ่มสูงขึ้นที่รังไข่ระยะที่ 4 ($2.67 \pm$ ไม่ได้เมื่อใกล้ถึงเวลาน้ำเงินแกมส้ม ซึ่งไวเทลโลเจนินจะเจริญอยู่ระยะที่ 3 จะเพิ่มสูงขึ้น และ ในระยะนี้จะมีปริมาณของไวเทลโลเจนินที่สูง ดังภาพที่ 1



อดมีปริมาณต่ำในจะมีสีน้ำเงินของล่าวว่า ไวเทลโลเจนินที่ 1 (0.05 ของไวเทลโลเจนินที่รังไข่เจริญอยู่ในเมื่อจะตรวจวัดที่ 2 จะมีสีเจนนเพิ่มมากขึ้นกมส้ม ที่รังไข่เองไวเทลโลเจนินส้มแดง เนื่องจาก



ภาพที่ 10 สีของเลือดตามระยะการเจริญของรังไข่ของปูทะเล *Scylla spp.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า GSI ของปูทะเล (*Scylla olivacea*) ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1 , 2 , 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 0.674 ± 0.035 , 1.156 ± 0.137 , 3.083 ± 0.342 และ 8.820 ± 0.764 ตามลำดับ และค่า GSI ของปูทะเล (*Scylla paramamosian*) ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1 , 2 , 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 0.511 ± 0.081 , 1.776 ± 0.240 , 4.535 ± 0.576 และ 10.642 ± 0.696 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4 และ 5) ซึ่งจะพบว่าค่า GSI จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญของรังไข่ของปูทะเล (*Scylla spp.*) และ ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1 และ 2 ของปูทะเลทั้งสองชนิดมีค่า GSI ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ $p < 0.05$ แต่ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 3 และ ระยะที่ 4 ของปูทะเลทั้งสองชนิดมีค่า GSI แตกต่างกันอย่างสถิติที่ $p < 0.05$ ซึ่งการทดลองที่ได้จะสอดคล้องกับ Tsutsui et al. (2000) ซึ่งได้ติดตามแหล่งสร้างไวเทลโลเจนินใน *Penaeus japonicus* ได้แบ่งระยะการเจริญของรังไข่ตามค่าดัชนีรังไข่ (GSI) ดังนี้ GSI เท่ากับ 0.2-0.5 % เป็นระยะ previtellogenesis (ระยะที่ 1) , GSI เท่ากับ 1.4-7.2 % เป็นระยะ late exuvial moult (ระยะที่ 2) , GSI เท่ากับ 7.7-8.9 % เป็นระยะ vitellogenesis (ระยะที่ 3) และ GSI เท่ากับ 9.0-10.0 % เป็นระยะ vitellogenesis (ระยะที่ 4)

ค่า FM
ระยะที่ 1 , 2 , 3
0.018 ตามลำดับ
1, 2 , 3 และ 4 ;
ตามลำดับ (ดังต
1, 2 , 3 และ 4
เจริญอยู่ในระยะที่
ค่าหักเห



ที่รังไข่เจริญอยู่ใน
65 และ $0.966 \pm$
เจริญอยู่ในระยะที่
จะ 0.871 ± 0.009
เจริญอยู่ในระยะที่
ทั้งสองชนิดที่รังไข่
:ที่ 1 , 2 , 3 และ

4 มีค่าเท่ากับ 68.13 ± 0.21 , 68.13 ± 2.11 , 68.44 ± 2.00 , 110.00 ± 2.00 ตามลำดับ ค่าดูดกลืนแสงของปูทะเล (*Scylla paramamosian*) ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1 , 2 , 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 71.53 ± 2.23 , 84.06 ± 2.65 , 91.47 ± 2.56 , 107.52 ± 1.71 ตามลำดับ ซึ่งจะพบว่าค่าหักเหแสงของเลือดปูทะเลทั้งสองชนิดจะมีค่าหักเหแสงเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญของรังไข่ ปูทะเลและทั้งสองชนิดที่รังไข่เจริญอยู่ระยะที่ 1 , 2 , 3 และ 4 มีค่าแตกต่างกันทางสถิติที่ $p < 0.05$ แสดงว่าค่าดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์กับระยะการเจริญของรังไข่ของปูทะเล (ดังตารางที่ 4 และ 5)

ค่าดูดกลืนแสงของปูทะเล (*Scylla olivacea*) ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1 , 2 , 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 0.222 ± 0.021 , 0.320 ± 0.011 , 0.364 ± 0.006 , 0.424 ± 0.009 ตามลำดับ ค่าดูดกลืนแสงของปูทะเล (*Scylla paramamosian*) ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1 , 2 , 3 และ 4 มีค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 0.232 ± 0.001 , 0.325 ± 0.008 , 0.374 ± 0.015 , 0.427 ± 0.006 ตามลำดับ ซึ่งจะพบว่าค่า ดูดกลืนแสงของเลือดปูทะเลทั้งสองชนิดจะมีค่าดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเจริญของรังไข่ ปูทะเลและทั้งสองชนิดที่รังไข่เจริญอยู่ระยะที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าแตกต่างกันทางสถิติที่ $p < 0.05$ แสดงว่าค่าดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาเจริญของรังไข่ของปูทะเล (*Scylla spp.*) (ดังตารางที่ 4 และ 5)

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางกายภาพ กับ ระยะเวลาเจริญของรังไข่ของปูทะเล เพศเมีย (*Scylla olivacea*)

		ระยะเวลาเจริญของรังไข่ของปูทะเลเพศเมีย			
ปัจจัย					4
GSI					^b 8.820 ± 0.764^c
FMI					^a 0.966 ± 0.018^a
ค่าดูดกลืนแสง					^c 0.424 ± 0.009^d
ค่าหักเหแสง					^d 113.36 ± 2.85^d
a,b อักษรเดียวกัน					ที่ ($P < 0.05$)
ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางกายภาพ กับ ระยะเวลาเจริญของรังไข่ของปูทะเลเพศเมีย (<i>Scylla p</i>)					รังไข่ของปูทะเล
ปัจจัย					ย
GSI					4
FMI	0.862 ± 0.021^a	0.893 ± 0.012^a	0.888 ± 0.014^a	0.871 ± 0.009^a	10.642 ± 0.696^c
ค่าดูดกลืนแสง	0.232 ± 0.001^a	0.325 ± 0.008^b	0.374 ± 0.015^c	0.427 ± 0.006^d	
ค่าหักเหแสง	71.53 ± 2.23^a	84.06 ± 2.65^b	91.47 ± 2.56^c	107.52 ± 1.71^d	

a,b อักษรเดียวกันอยู่ในแถวเดียวกันหมายความว่ามีความไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเลเพศเมียที่มีรังไข่เจริญอยู่ในระยะต่างๆ

การศึกษาหาปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเลเพศเมียโดย Bradford technique ซึ่งก่อนการทำการหาปริมาณโปรตีนในเลือดปูทะเลจะต้องมีการทำ standard curve ด้วย BSA ทุกครั้ง ซึ่งค่าดูดกลืนแสงของเลือดในปูทะเล (*S. paramamosian*) ที่ 595 nm ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 0.232 ± 0.001 , 0.325 ± 0.008 , 0.374 ± 0.015 และ 0.427 ± 0.006 ตามลำดับ ซึ่งค่าดูดกลืนแสงของเลือดจะเพิ่มมากขึ้นตามระยะการเจริญของรังไข่ และ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p < 0.05$ แสดงว่า ค่าดูดกลืนแสงของเลือดมีความสัมพันธ์กับระยะการเจริญของรังไข่ และ ค่าดูดกลืนแสงของเลือดในปูทะเล (*S. olivacea*) ที่ 595 nm ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 0.222 ± 0.021 , 0.320 ± 0.011 , 0.364 ± 0.006

เพิ่มขึ้นเช่นเดียว
 $p < 0.05$ แสดงว่า
 (ดังตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ค่าดูด

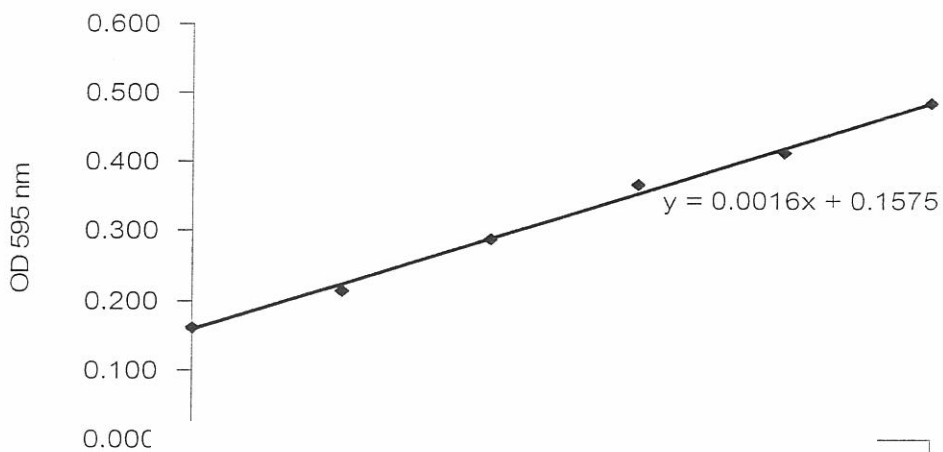
<i>S. paramamosian</i>
<i>S. olivacea</i>
a,b อักษรเดียวกัน



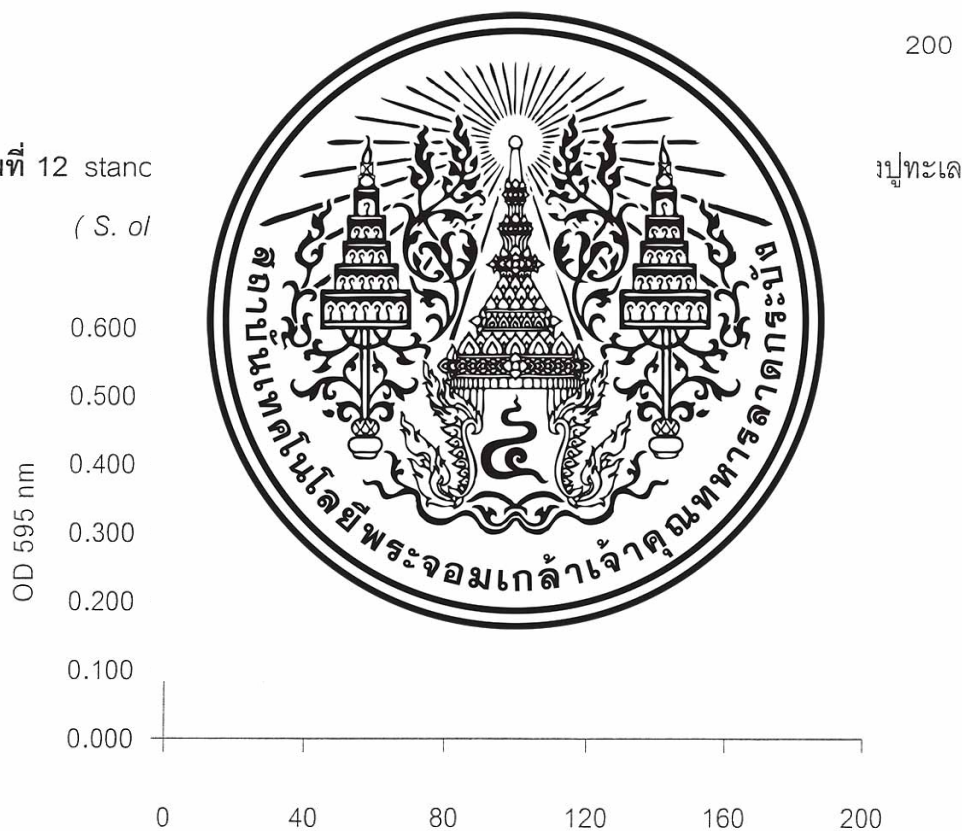
ใน *S. olivacea* ต่างกันทางสถิติที่เดียวกัน

<i>S. olivacea</i> ที่ 595 nm
ระยะที่ 4
0.427 ± 0.006^d
0.424 ± 0.009^d
ที่ ($P < 0.05$)

ในการหาปริมาณโปรตีนโดยนำค่าดูดกลืนแสงในเลือดของปูทะเลที่วัดได้เทียบกับ standard curve เพื่อหาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างเลือดที่ทำการทดลอง แล้วคำนวณหา Total protein content ในเลือดตัวอย่างหน่วยเป็น mg/ml ซึ่ง standard curve ของ *S. paramamosian* ดังภาพที่ 11 และ standard curve ของ *S. olivacea* ดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 stanc
(*S. ol*



ความเข้มข้นของ BSA (ไมโครกรัม/ไมโครลิตร)

ภาพที่ 11 standard curve ของ BSA สำหรับการหาปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเล
(*S. paramamosian*)

หลังจากที่ทำ Standard curve แล้วก็คำนวณหา Total protein content ในเลือด ตัวอย่างหน่วยเป็น mg/ml ได้ผลดังนี้ ปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเล (*S. paramamosian*) ที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1, 2, 3 และ 4 ดังนี้ 40.50 ± 12.86 mg/ml, 101.32 ± 6.57 mg/ml, 129.24 ± 3.54 mg/ml และ 166.26 ± 5.55 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าปริมาณโปรตีนในเลือดปูทะเลมีปริมาณที่สูงขึ้นตามระยะการเจริญของรังไข่ และมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p < 0.05$ แสดงว่าปริมาณโปรตีนมีความสัมพันธ์กับระยะการเจริญของรังไข่ และ ปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเล (*S. Olivacea*) มีค่า 32.97 ± 7.08 mg/ml ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 1, 99.65 ± 5.81 mg/ml ในระยะที่ 2, 134.42 ± 10.83 mg/ml ในระยะที่ 3 และ 172.27 ± 4.34 mg/ml ในระยะที่ 4 ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเล *Scylla spp.*

ปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเล <i>Scylla spp.</i> (mg/ml)	
	ระยะที่ 4
<i>S. paramamosi</i>	^c 166.26 ± 5.55^d
<i>S. olivacea</i>	^{3c} 172.27 ± 4.34^d
a,b อักษรเดียวกัน	ที่ (P<0.05)
3. การศึกษาการจากกา Dodecyl Sulfate electrophoresis ลักษณะของแถบหมายเลข 4 ของของโปรตีนในเลือด	และ Sodium ายหลังการ run tain แล้ว จะเห็นอย่างชัดเจนว่าใน ระยะที่ 4 มีปริมาณโปรตีนพื้นฐานที่

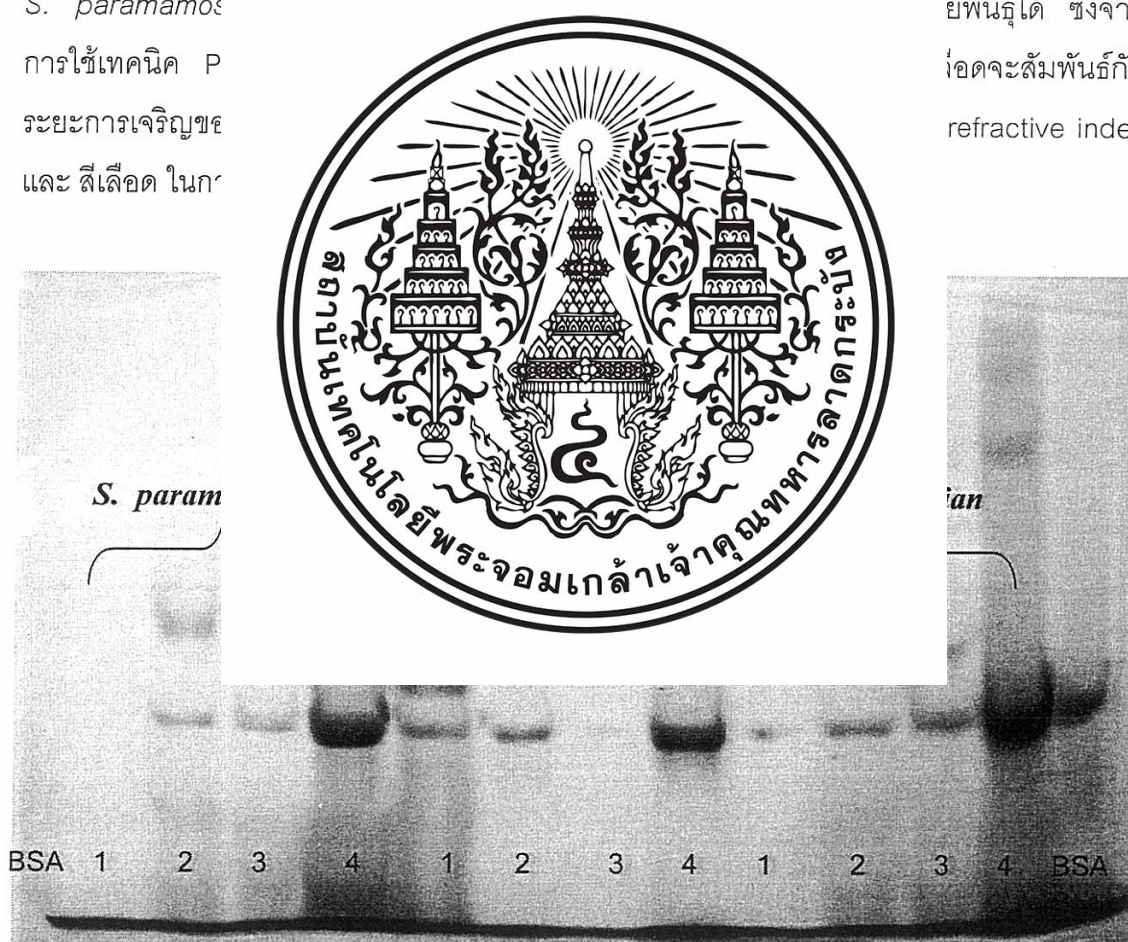


เหมือนกันดูจากเครื่องหมายรูปดาว ซึ่งจะมีแถบในแนวเดียวกัน ซึ่งคาดว่าเป็น ฮีโมไซยานิน ซึ่งจากการ run electrophoresis ทำให้เห็นความแตกต่างระหว่าง 2 สายพันธุ์ ก็คือ *S. olivacea* และ *S. paramamosian* จะมีแถบที่แตกต่างกันโดยที่แถบของ *S. paramamosian* ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 4 จะพบว่ามี 3 แถบ ในขณะที่ *S. olivacea* ที่รังไข่เจริญอยู่ในระยะที่ 4 ปรากฏขึ้นเพียง 2 แถบ ซึ่งก็สามารถที่จะจำแนกชนิดได้และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกว่าสารที่แตกต่างกันนั้นเป็นสารตัวใด ซึ่งทำให้สามารถยืนยันได้ว่าการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของโปรตีนในเลือดของปูทะเลมีความสัมพันธ์กับระยะการเจริญของรังไข่ โดยที่เมื่อระยะการเจริญของรังไข่มากขึ้นก็จะพบปริมาณของโปรตีนมากขึ้นเช่นกันซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ

Chang and Shih (1995) ได้ศึกษาปริมาณไอโอดีนในเลือดระหว่างการเจริญของรังไข่ของกุ้ง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก้ามกราม *M. rosenbergii* โดยเทคนิค ELISA ซึ่งได้แบ่งระยะการเจริญของรังไข่ออกเป็น 5 ระยะ พบว่าปริมาณไวเทลโลเจนนีเม็มวัดได้ตั้งแต่ระยะที่ 1 (1.82 mg/ml) และเพิ่มขึ้นในระยะที่ 2 (2.12 mg/ml) หลังจากนั้นมียระดับคงที่อยู่ในระดับนี้จนถึงระยะที่ 4 (ระยะที่ 3 มีค่าเท่ากับ 2.05 mg/ml; ระยะที่ 4 มีค่าเท่ากับ 2.48 mg/ml) และมีระดับลดลงในระยะก่อนกึ่งวางไข่หรือกำลังวางไข่ (ระยะที่ 5 มีค่าเท่ากับ 1.42 mg/ml) และในส่วนของ SDS-PAGE จะสามารถเห็นได้ชัดเจนว่าในแต่ละระยะจะมี subunit ของโปรตีนเป็นเท่าไร และเป็นชนิดใดบ้างซึ่งต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกมากในส่วนของ *S. olivacea* จะเห็นแถบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของโปรตีนที่ชัดเจน ซึ่งในแต่ละระยะจะมีองค์ประกอบของโปรตีนที่ไม่เหมือนกัน และจำนวนแถบจะลดลงแต่ความเข้มของแถบมีมากขึ้นซึ่งแสดงถึงการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเลและ *S. paramamosian* จะเห็นได้ชัดเจนว่าแถบในระยะที่ 4 มีความแตกต่างกับ *S. olivacea* ในระยะที่ 4 ซึ่ง *S. paramamosian* ใช้เทคนิค P ระยะการเจริญของ และ สีเลือด ในภา

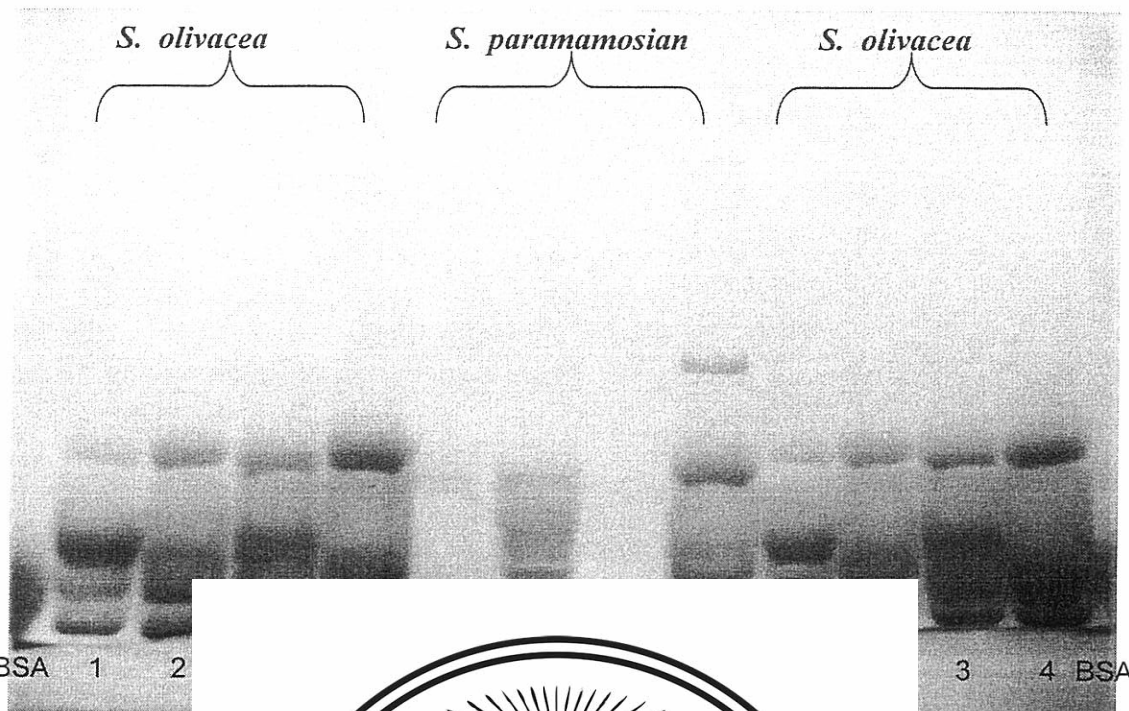
ยพันธุ์ได้ ซึ่งจาก
เลือดจะสัมพันธ์กับ
refractive index



ภาพที่ 13 ลักษณะของแถบ (band) ที่ได้จากการ run electrophoresis โดย PAGE ของเลือดของปูทะเลเพศเมีย *Scylla spp.*

1,2 แทนระยะการเจริญของรังไข่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 14 ลักษณะ
เลือด
1,2 แทนระยะการ

DS - PAGE ของ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford technique และนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนโดย PAGE และ SDS-PAGE technique เพื่อยืนยันความเหมาะสมของดัชนีชี้วัดที่จะใช้ในการจำแนกระยะการเจริญของรังไข่ปูทะเลเพศเมีย จากการศึกษหาปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเลเพศเมีย (*Scylla paramamosian*) ตามระยะการเจริญของรังไข่ที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 40.50 ± 12.86 mg/ml, 101.32 ± 6.57 mg/ml, 129.24 ± 3.54 mg/ml และ 166.26 ± 5.55 mg/ml ตามลำดับ และ ปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเลเพศเมีย *Scylla olivacea* ตามระยะการเจริญของรังไข่ที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ 32.97 ± 7.08 mg/ml, 99.65 ± 5.81 mg/ml, 124.42 ± 10.92 mg/ml และ 179.97 ± 4.24 mg/ml ตามลำดับ ผล

การวิเคราะห์องค์ประกอบความเข้มข้นของแถบและองค์ประกอบการเจริญของรังไข่ โดยพบว่าความเข้มข้นตามระยะการเจริญและองค์ประกอบสีของเลือดเป็นดัชนีชี้แจง เนื่องจากกระบวนการใช้สีเลือดเกษตร



แตกต่างกันซึ่งการศึกษาปริมาณมากขึ้นเมื่อระยะการเปลี่ยนแปลงเลือดที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับปริมาณของเลือดและเองปูทะเลเพศปูทะเลได้ แต่ในรังไข่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการทำการทดลองหาปริมาณโปรตีนและองค์ประกอบของโปรตีนในเลือดของปูทะเลที่มีการเจริญของรังไข่ในระยะต่างๆ ตัวอย่างเลือดที่เก็บจะต้องมีการเก็บรักษาที่ดี และการเก็บไม่ควรนานจนเกินไป เนื่องจากทำให้องค์ประกอบของโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลง หรือในการทำการทดลองให้กระทำหลังจากทำการผ่าตัด ซึ่งจะทำให้ได้ผลที่เที่ยงตรงมากกว่า
 2. ควรทำการทดลองตามสถานที่ลงปฏิบัติงานภาคสนามเพื่อลดความแปรปรวนที่จะเกิดจากความเครียดที่มีสาเหตุจากการขนส่งที่มีระยะไกล
 3. จากการศึกษาขององค์ประกอบของโปรตีนซึ่งทำให้พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบโปรตีนในเลือดของปูทะเลในระยะการเจริญของรังไข่ มีความแตกต่างกัน แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม
- เจริญของรังไข่ อี

แต่ละระยะการ
1 เมีย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จันทร์จิรา ลังพาลี . 2541. การติดตามแหล่งสร้างไวเทลโลเจนินระหว่างการพัฒนารังไข่ในระยะต่างๆ ของปูทะเลโดยใช้เทคนิคอัมมูโนไซโตเคมีสทรี. สัมมนาปัญหาพิเศษสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ดวงใจ งามสม.2543.ความสัมพันธ์ของปริมาณไวเทลโลเจนินในเลือดกับการเจริญของรังไข่ของปูทะเล *Scylla serrata* (FORSKAL,1775) โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวเทลลินที่เสียสภาพ.วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา

บรรจง เทียนสงฆ์

การเพาะ

อุตสาหกรรม

รัชฎา แดงวัฒนา

ไข่นอก

ศิวาพร ลงยันต์

Metap



ศัพท์พยากกร และ

ละพัฒนา

หน้า

ta Forskal) ให้มี

ไข่ของกุ้งตะกาด

สุรชาติ ฉวีภักดิ์ และสิทธิวัฒน์ สุทธิอาจ.2538 . การเลี้ยงแม่พันธุ์ปูทะเล (*Scylla serrata* Forskal) ให้มีไข่นอกกระดองในบ่อซีเมนต์ 4 วิธี.เอกสารวิชาการฉบับที่ 15/2538 ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจันทบุรี กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 39 หน้า

เสน่ห์ ผลประสิทธิ์.2541.การเลี้ยงปูทะเล.กรุงเทพมหานคร :โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, 33 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alpuchea, J., A., Pereyrah, C., Agundisb, C., Rosasa, C., Pascuala, M.C., Slomiannyc, L., Vazquezd, E., Zenteno.2005.Purification and characterization of a lectin from the white shrimp *Litopenaeus setiferus* (Crustacea decapoda) hemolymph.Biochimica et Biophysica Acta .1724 : 86 – 93.

Bradford, M.M.1976. A rapid and sensitive method for the quantitative of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding . Anal . Biochem . 72 : 248-254.

Chang ,C.F. and Shih T W 1995 Reproductive cycle of ovarian development and vitellog . Invert .Reprc .rgii .

Chen,J.C.,Peng-
in the l
of Exp

Favilla. R., M.Gc
Guanic
Carcini
51– 59



lectrolyte levels
it cycle.Journal

Itramini .2002 .
subunit from
cta . 1597:

Hill, B.J.,1982.The Queensland mud crab fishery.Queenland Fisheries Information series FI 8201.41 pp.

Keenan , C.P. , Davie , P.J.F. and Mann , D.L. 1998 . A revision of the genus *Scylla* De Haan,1833. (Crustacea : Decapod : Brachyura : Potunidae). The Raffles Bull.Zool. 46(1): 215-245.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lee,C.Y.and Walker,A.1995.Lipovitellin and lipid droplet accumulation in oocytes during ovarian maturation in the blue crab *Callinectes sapidus*. J .Exp.Zool. 271: 401-412.

Lee ,C.Y. and Watson ,R.D. 1995 . In vitro study of vitellogenesis in the blue crab *Callinectes sapidus*: Site and Control of Vitellin Synthesis. J.Exp.Zool. 271:364-372.

Quinitio.E.T.,Hara,A.,Yamauchi,K. and Nakao,S.1994. Change in the steroid hormone and vitellogenin levels during the gametogenic cycle of the giant tiger shrimp *Penaeus*

Quinn.N.J. and
(Crust
Mar.Sc

Tsutsui ,N., Kaw
,K.2001
expres
kuruma



nea.Bull

N.and Aida
enin and its
is in the

Vay, L. L. 2001.

Science.14: 101-111.

Asian Fisheries

Williams.M.J. and Primavera.J.H. 2001 . Choosing tropical potunid species for culture,domestication and stock enhancement in the Indo-Pacific . Asian Fisheries Science.14: 121-142.

Yoganandhan K.,S.Thirupathi., A.S. Sahul Hameed.,2003. Biochemical, physiological and hematological changes in white spot syndrome virus - infected shrimp, *Penaeus indicus*. Aquaculture. 221 :1 – 11.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สารละลายที่ใช้ในการศึกษา

1. สารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน (Total protein content)

1.1 Bradford Reagent

วิธีการเตรียม	- Coomassie Brilliant Blue G-250	10	mg
	- Ethanol 95 %	5	ml
	- Phosphoric acid 85 %	10	ml
	- เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรรวมเป็น	100	ml

กรองและเก็บในขวดสีชาที่ 4 °C และกรองก่อนใช้ทุกครั้ง

2. สารละลายสัฟ

2.1 Poly:

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2

2



เกลือ

14.6 g

0.4 g

50 ml

i.8

20% glycol, 10%

วิธีการเตรียม	- 0.5 M Tris(hydroxymethyl) aminomethane	2.5	ml
	- Glycerol	2	ml
	- เติมน้ำกลั่นปริมาตร	5.3	ml
	- เติม 0.05% Bromophenol blue	0.2	ml

2.1.5 PAGE- Upper tank buffer (37.6 mM tris, 40 mM HCl, pH 8.89)

วิธีการเตรียม	- Tris(hydroxymethyl) aminomethane	4.56	g
	- Glycine	3	g
	- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้	1000	ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 PAGE- Lower tank buffer (63 mM tris, 50 mM HCl, pH 7.47)

วิธีการเตรียม	- Tris(hydroxymethyl) aminomethane	22.7	g
	- 1 N Hydrochloric acid	150	ml
	- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้	1000	ml

2.1.7 Separating gel and stacking gel for PAGE

วิธีการเตรียม	- Monomer solution	5	ml
	- 1.5 M tris-Cl	7.5	ml
	- น้ำกลั่น	17.05	ml
	- ทำการ Degas เป็นเวลา 15 นาที		

150 μ l20 μ l

2.2 sodi



(SDS-PAGE)

5 g

50 ml

0.1 g

50 ml

ตอองเตรอยม เหมมทุทครองทเซ

2.2.4 0.5 M tris-Cl pH 6.8

วิธีการเตรียม	- 4X 0.5 M tris-Cl pH 6.8	2.5	ml
	- เติมน้ำกลั่น	7.5	ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 SDS-PAGE tank buffer (0.0025 M tris pH 8.3, 0.192 M glycine, 0.1% SDS)

วิธีการเตรียม	-Tris	3	g
	- Glycine	14.4	g
	-10% SDS	10	ml
	-ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรเป็น	1000	ml

2.2.6 2X treatment buffer (0.125 M tris Cl pH 6.8, 4% SDS, 20% glycol, 10% 2-mercaptoethanol)

วิธีการเตรียม	- 0.5 M Tris(hydroxymethyl) aminomethane	2.5	ml
		2	ml
		5.3	ml
		0.2	ml
		4	ml
		1	ml

2
๖)



๖.7% C_{Bis})
7.5 ml
7.5 ml
0.3 ml
14.55 ml

- 10% Ammonium persulfate	150	μl
- Tetramethylethylene-diamine (TEMED)	20	μl

2.2.8 Stacking gel for SDS-PAGE 4% gel (4% T, 2.7% C_{Bis})

วิธีการเตรียม	- Monomer solution	1.33	ml
	- 1.5 M tris-Cl pH 8.8	2.5	ml
	- 10% SDS	0.1	ml
	- น้ำกลั่น	6.1	ml
	- ทำการ Degas เป็นเวลา 15 นาที		
	- 10% Ammonium persulfate	50	μl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Tetramethylethylene-diamine (TEMED) 5 μ l

1.1 สีย้อม protein

1.1.1 Coomassie Blue

วิธีการเตรียม - 1 %Coomassie Brilliant Blue G-250 50 ml
 - Methanol 250 ml
 - Acetic acid 50 ml
 - ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรเป็น 500 ml

1.2 Destain solution (Destain I , II)



250 ml

50 ml

1000 ml

50 ml

70 ml

1000 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

1. การหา Total protein content

1.1 การทำ Standard curve

โดยใช้ BSA ความเข้มข้น 100 μ g/ml เตรียมสารตามตารางด้านล่าง

ตารางที่ 1 การเตรียม standard curve

หลอดที่	จำนวน μ l ของBSA	น้ำกลั่น (μ l)	Bradford (μ l)	ปริมาณBSAในหลอด
1	0	1600	400	0
2	40	1560	400	4.0
3	80	1520	400	8.0
4				12.0
5				16.0
6				20.0

แต่ละความเข้มข้น
optical dens
ความเข้มข้น

1.2 การ
ระยะต่างๆ

นำ
จางที่เหมาะสม
Bradford Rea

กันดีแล้ว นำมาวัดค่า OD ที่ 595 nm นำค่า OD ที่วัดได้มาเปรียบเทียบกับ Standard curve เพื่อหาความเข้มข้นของโปรตีนในหลอดตัวอย่าง หลังจากที่ได้ค่า OD นำค่าที่ได้มาคำนวณหา Total protein content ในเลือด หน่วยเป็น mg/ml



กันดีแล้ว วัดค่า
วัดได้มา plot ต่อ
วังไขเจริญอยู่ใน

ระดับความเจือ
เติมน้ำกลั่น และ
้ำ) เมื่อผสมเข้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบโปรตีน

2.1 เตรียม gel cassette สำหรับเทเจลตาม วิธีที่ระบุในคู่มือของอุปกรณ์

(Polyacrylamide gel electrophoresis set) นำส่วนผสมที่เป็น Ammonium persulfate และ Tetramethylethylene-diamine (TEMED) เทใส่ cassette โดยใช้ Pasteur pipette เท Separating gel ให้สูงประมาณ 10 เซนติเมตร Overlay ด้วยน้ำกลั่น เมื่อ Separating gel แข็งตัวเทน้ำกลั่นออก ใช้กระดาษซับออกให้หมด และเท Stacking gel และใส่ comb plate เมื่อ Stacking gel แข็งตัว แล้วเอา comb plate ออก ประกอบแผ่นเจลเข้ากับ Upper tank เติม Lower tank buffer

2.2 ใส่ตัวอย่างลงในร่องที่เกิดจาก comb plate

2.3 เติม Upper tank buffer ใน Upper tank

2.4 ปิด

2.5 ทำ

ขั้วบวกไปยังขั้วลบ

2.6 เมื่อ

ขั้วโหมง

2.7 ทำ

2.8 Dry

2.9 บันทึก



ขั้วโหมง กระแสจาก

ขั้วลบ เป็นเวลา 5-6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ข้อมูลดิบ

1. การศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะทางกายภาพที่ใช้ในการจำแนกระยะการเจริญของรังไข่ของปูทะเล (*Scylla spp.*)

ตารางที่ 2 สีเลือดของปูทะเล *S. olivacea*

<i>S. olivacea</i>				
	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3	ระยะ 4
1	สีน้ำเงินเทาๆ	น้ำเงินปนส้ม	สีส้มอ่อนๆ	สีส้มแดง
2	สีน้ำ			สีส้ม
3	สีน้ำ			ส้มน้ำตาล
4	สีน้ำ			สีส้มเข้ม
5				สีส้มเข้ม
6	น้ำ			สีส้มเข้ม
7	น้ำ			สีส้มเข้ม
8	สีน้ำ			สีส้มเข้ม
9				สีส้มเข้ม
10	น้ำ			ส้ม
11	น้ำ			ส้ม
12	สีน้ำ			ส้ม
13	สีน้ำ			ส้ม
14	น้ำเงินใส	น้ำเงินปนส้ม	ใสส้ม	ส้ม
15	น้ำเงินใส	น้ำเงินปนส้ม	สีส้มอ่อนๆ	ส้ม
16	สีน้ำเงินเทาๆ	น้ำเงินปนส้ม	ใสส้ม	ส้ม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 สีเลือดของปูทะเล *S. paramamosian*

<i>S. paramamosian</i>				
	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3	ระยะ 4
1	สีน้ำเงินขุ่นๆ	สีน้ำเงินปนส้มอ่อน	สีน้ำเงินปนส้ม	สีส้ม
2	สีน้ำเงินขุ่นๆ	สีน้ำเงินปนส้มอ่อน	สีน้ำเงินปนส้ม	สีส้ม
3	สีน้ำเงินขุ่นๆ	สีน้ำเงินปนส้มอ่อน	สีน้ำเงินปนส้ม	สีส้มเข้ม
4	สีน้ำเงินขุ่นๆ	สีน้ำเงินปนส้มอ่อน	สีน้ำเงินปนส้ม	สีส้มแนวน้ำตาล
5	สีน้ำเงินขุ่นๆ	สีน้ำเงินปนส้มอ่อน	สีส้ม	สีส้มเข้ม
6	สีน้ำเงินขุ่นๆ	สีน้ำเงินปนส้มอ่อน	สีส้ม	สีส้ม
7	สีน้ำเงิน			สีส้ม
8	สีน้ำเงิน			สีส้มเข้ม
9	สีน้ำเงิน			สีส้มน้ำตาล
10	สีน้ำเงิน			สีส้มเข้ม
11	สีน้ำเงิน			สีส้ม
12	สีน้ำเงิน			สีส้ม
13	สีน้ำเงิน			สีส้มเข้ม
14	สีน้ำเงิน			สีส้มแนวน้ำตาล
15	สีน้ำเงิน			สีส้มเข้ม
16	สีน้ำเงิน			สีส้มเข้ม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ค่า GSI ของปูทะเล (*Scylla spp.*)

	<i>S. olivacea</i>				<i>S. paramamosian</i>			
	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3	ระยะ 4	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3	ระยะ 4
1	0.636	1.282	3.738	9.302	0.873	2.4	4.406	7.792
2	0.531	1.632	4.504	9.411	0.334	1.632	12.037	9.855
3	0.8	0.847	2.922	10.852	0.317	2.469	5.487	12.534
4	1.060	0.836	4.838	9.146	0.576	3.351	2.506	12.777
5	0.571	1.351	5.309	8.333	0.480	2.272	6.043	8.857
6	0.699						343	7.775
7	0.781						208	7.028
8	0.757						339	11.695
9	0.628						.8	7.555
10	0.578						51	15.888
11	0.588						188	11.804
12	0.625						47	14.147
13	0.847						85	10.642
14	0.510						61	9.412
15	0.591						95	12.55
16	0.578						58	9.620
Mean	0.673						34	10.642
SD	0.143	0.547	1.369	3.056	0.322	0.960	2.304	2.785
SE	0.035	0.136	0.342	0.764	0.080	0.240	0.576	0.696



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ค่า FMI ของปูทะเล (*Scylla spp.*)

	<i>S. olivacea</i>				<i>S. paramamosian</i>			
	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3	ระยะ 4	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3	ระยะ 4
1	0.936	0.886	1.205	0.906	0.942	0.890	0.949	0.867
2	0.958	0.960	1.135	0.934	0.864	0.960	0.867	0.843
3	0.941	0.910	0.913	0.952	0.807	0.947	0.816	0.888
4	0.894	0.905	0.857	1.076	0.906	0.795	0.924	0.923
5	0.916	0.851	1.138	1.102	0.706	0.865	0.888	0.890
6	0.934						0.834	0.808
7	0.955						0.894	0.828
8	0.761						0.848	0.857
9	1						0.818	0.876
10	0.916						0.892	0.866
11	0.897						0.885	0.937
12	0.916						0.846	0.872
13	0.913						0.867	0.826
14	0.979						0.857	0.834
15	1						0.813	0.943
16	0.895						0.885	0.928
Mean	0.925	0.923	1.029	0.966	0.862	0.893	0.887	0.871
SD	0.055	0.056	0.261	0.072	0.086	0.048	0.057	0.036
SE	0.013	0.014	0.065	0.018	0.021	0.012	0.014	0.009



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ค่าหักเหแสงของของเลือดปูทะเล (*Scylla spp.*)

	<i>S. olivacea</i>				<i>S. paramamosian</i>			
	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3	ระยะ 4	ระยะ 1	ระยะ 2	ระยะ 3	ระยะ 4
1	89	86	105	119	78	85	80	111.2
2	79	86	108	121	76	86	78	111
3	80	89	93	115	86	90	79	111.2
4	83	90	107	121	63	82	72.2	114.1
5	42	95	107	110	75	71	111.2	115
6	40						10	111.2
7	70						12	100
8	72						2	102
9	71						1.1	92
10	60						2	100.1
11	75						3	111.2
12	64						2	111.2
13	67						3	107.5
14	70						1	98
15	66						1	105
16	72						7	103
Mean	68.75	80.187	96.437	113.375	71.5	84.062	91.468	107.515
SD	13.076	8.423	8.237	11.389	8.914	10.598	10.229	6.843
SE	3.269	2.105	2.059	2.847	2.228	2.649	2.557	1.710



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเลือดของปูทะเลเพศเมียที่มีรังไข่เจริญอยู่ในระยะต่างๆ

ตารางที่ 7 ค่าดูดกลืนแสงของเลือดปูทะเล (*Scylla spp.*)

	<i>S. paramamosian</i>				<i>S. olivacea</i>			
	ระยะ1	ระยะ2	ระยะ3	ระยะ4	ระยะ1	ระยะ2	ระยะ3	ระยะ4
1	0.0705	0.250	0.374	0.375	0.188	0.365	0.451	0.457
2	0.2334	0.325	0.383	0.468	0.230	0.291	0.3566	0.419
3	0.1783	0.330	0.344	0.454	0.258	0.258	0.4315	0.425
4	0.3766						16	0.412
5	0.1947						97	0.404
6	0.3121						56	0.438
7	0.3567						54	0.413
8	0.2066						41	0.476
9	0.205						64	0.411
10	0.1426						61	0.436
11	0.3017						76	0.393
12	0.222						02	0.401
13	0.1399						12	0.471
14	0.2279						12	0.445
15	0.1829						12	0.425
16	0.3442	0.308	0.402	0.392	0.248	0.354	0.4587	0.411
17	0.0912	0.278	0.354	0.380	0.280	0.386	0.4003	0.455
18	0.2152	0.396	0.380	0.421	0.162	0.285	0.2989	0.390
Mean	0.222	0.319	0.364	0.423	0.231	0.325	0.373	0.426
SD	0.087	0.044	0.024	0.037	0.042	0.034	0.064	0.025
SE	0.020	0.010	0.005	0.008	0.009	0.008	0.015156	0.006



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้