



รายงานการวิจัย

พัฒนาการและองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ปูเสฉม *Episesarma versicolor*

Development and chemical composition of ovary of
sesarmid crab *Episesarma versicolor*

ชาญยุทธ สุตทองคง Chanyut Sudtongkong
ศิลาปชัย เสนารัตน์ Sinlapachai Senarat

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2564

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่อง พัฒนาการและองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ปูแสม *Episesarma versicolor* ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย พ.ศ. 2564 และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่สนับสนุนปัจจัยพื้นฐานการวิจัย เช่น ครุภัณฑ์ วิทยาศาสตร์ และอุปกรณ์อื่นๆ ทำให้การดำเนินการวิจัยในครั้งนี้บรรลุตามวัตถุประสงค์ และใคร่ขอขอบคุณที่มิวิจัยห้องปฏิบัติการวิจัยปูน้ำเค็ม (Marine Crab Research Laboratory) ประกอบด้วยนายมุฮัมหมัด จิตรณรงค์ และ น.ส.ศุภรัตน์ คงโอ ที่ช่วยเก็บข้อมูลต่างๆ

ชาญยุทธ สุตทองคง

ศิลปชัย เสนารัตน์

สิงหาคม 2565



พัฒนาการและองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ปูแสม *Episesarma versicolor*

ชาญยุทธ สุตทองคง¹ และศิลาชัย เสนารัตน์¹

บทคัดย่อ

ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูแสมเมียดได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง แต่ยังคงขาดการศึกษาสำหรับปูแสม *Episesarma versicolor* (Tweedie, 1940) ที่เป็นปูที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ศึกษาเพื่อการพัฒนาและองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ของปูชนิดนี้ ช่วงเริ่มต้นของการพัฒนาของรังไข่ โครงสร้าง germinal center วางตัวอยู่ตรงกลาง ประกอบด้วยเนื้อเยื่อพัน และพัฒนาการของเซลล์ไข่ในระยะโอโอโกเนียม (Oogonium) และการเจริญเติบโตขั้นต้น ซึ่งเป็นระยะเซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดง (Previtellogenic oocyte stage; Oc I) ขณะที่ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นต้น (Early vitellogenic oocyte stage; Oc II) ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นปลาย (Late vitellogenic oocyte stage; Oc III) และระยะเซลล์ไข่ระยะไข่ขั้นสมบูรณ์ (Mature oocyte stage, Oc IV) ได้มีการพัฒนาภายในบริเวณ peripheral germinal zones สำหรับการวิเคราะห์การพัฒนาของรังไข่ แบ่งเป็น 4 ระยะ คือ รังไข่ระยะที่ 1 (immature stage) รังไข่มีขนาดเล็กที่สุด เป็นสีโปร่งแสง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพัฒนาของโอโอโกเนียม และระยะการเจริญเติบโตขั้นต้น รังไข่ระยะที่ 2 (developing stage) มีลักษณะเป็นสีขาวครีมและมีโอโอไซด์ (oocytes) เป็นส่วนใหญ่ รังไข่ระยะที่ 3 (developed stage) รังไข่สีส้ม และมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไข่ Oc3/Oc4 รังไข่ระยะที่ 4 รังไข่ (mature stage) มีสีเหลืองเข้มถึงน้ำตาลแดง/ส้มและประกอบด้วย Oc4 อย่างเด่นชัด ส่วนการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ของปูแสมชนิดนี้ พบกรดไขมัน (Fatty Acid) ได้แก่ Eicosapentaenoic acid (C20:5n3), Oleic acid (C18:1n9c), Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6n3), Arachidonic acid (C20:4n6) และ Linoleic acid (C18:2n6c)

คำสำคัญ: ปูแสม, รังไข่, พัฒนาการและองค์ประกอบทางเคมี

¹ สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเลและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

Development and chemical composition of ovary of sesarmid crab *Episesarma versicolor*

Chanyut Sudtongkong¹ and Sinlapachai Senarat¹

Abstract

Female reproductive of the crabs has been widely observed, but it is missing of the violet vinegar crab, *Episesarma versicolor* (Tweedie, 1940), as the economically important crab in Thailand. In the current research, we studied to determine the development and chemical composition of ovary of this crab species. At the commencement of the germinative centers of the ovary, it was the center of the ovarian tissue and consisted of oogonia proliferation and primary growth phase referring to previtellogenic stage; Oc I), whereas the secondary growth phase dividing into early vitellogenic stage (Oc II), late vitellogenic stage (Oc III), and mature stages (Oc IV) were formed within the peripheral germinal zones. For the analysis of the ovary development, there were four distinct stages. Stage I ovary (immature stage) appeared the smallest organ as a translucent color with the most of the oogonia proliferation and primary growth phases. Stage II ovary was characterized by the appearance of a creamy white color and mainly contained Oc I oocytes. In Stage III became to bright orange ovary and began with the proliferation of Oc I/Oc IV oocytes. Stage V ovary (mature stage) had a deep yellow to red-brown/orange color and was dominantly consisted of Oc IV. For studying the chemical composition, the fatty acids that accumulate in the ovary of this sesarmid species are Eicosapentaenoic acid (C20: 5n3), Oleic acid (C18: 1n9c), Docosahexaenoic acid (DHA) (C22: 6n3), Arachidonic acid (C20: 4n6) and Linoleic acid (C18: 2n6c).

Keywords: Sesarmid crab, Ovary, Development and Chemical Composition

¹ Department of Marine Science and Environment, Faculty of Science and Fisheries Technology,

Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang.

สารบัญ

เนื้อเรื่อง	หน้า
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	2
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย	3
สรุปผลการวิจัย	12
เอกสารอ้างอิง	14



สารบัญตาราง

ตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 กรดไขมันที่พบสะสมในรังไข่ (Ovary) ของปูแสม *Episesarma versicolor*

11



สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
ภาพที่ 1 ปูแสม <i>Episesarma versicolor</i> (Tweedie, 1940)	1
ภาพที่ 2 แหล่งเก็บตัวอย่างปูแสม <i>E. versicolor</i> บริเวณชายฝั่ง จังหวัดตรัง	2
ภาพที่ 3 มิถุนวิทยาของรังไข่ปูแสม <i>E. versicolor</i>	4
ภาพที่ 4 พัฒนาการของเซลล์ไข่ปูแสม <i>E. versicolor</i>	6
ภาพที่ 5 พัฒนาการของเซลล์ไข่ปูแสม <i>E. versicolor</i> ประกอบด้วยเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดง	7
ภาพที่ 6 การเจริญของรังไข่ปูแสม <i>E. versicolor</i>	9
ภาพที่ 7 การเจริญของรังไข่ปูแสม <i>E. versicolor</i> ระยะ immature stage	10



บทนำ

ปูแสมที่อาศัยในบริเวณป่าชายเลน อาหารของปูแสมได้แก่เศษใบไม้ อินทรีย์วัตถุ สาหร่ายและสัตว์ขนาดเล็กที่อยู่ตามผิวดินในป่าชายเลน (Thongtham and Kristensen, 2005; Thongtham *et al.* 2008) ปูแสมจึงมีบทบาทในระบบนิเวศป่าชายเลน ในการถ่ายทอดพลังงานเป็นสายใยอาหารในป่าชายเลน โดยทำหน้าที่ย่อยสลายใบไม้ที่ร่วงหล่นและอินทรีย์วัตถุในป่าชายเลนให้เป็นชิ้นเล็กๆ และเศษใบไม้เหล่านั้นถูกย่อยสลายต่อโดยแบคทีเรียและรา หลังจากนั้นแบคทีเรียจะถูกกินโดยผู้บริโภคชั้นสูงกว่า (Shokita 2004; Thimdee *et al.* 2004)

ปูแสม *Episesarma versicolor* (Tweedie, 1940) (ภาพที่ 1) เป็นปูที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง (Lee *et al.* 2015) ที่คนไทยนิยมจับมาแปรรูปเป็นปูเค็มเพื่อบริโภคและจำหน่ายเป็นรายได้ ปัจจุบันผลผลิตปูแสมของประเทศไทยมีแนวโน้มไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ เนื่องจากการบริโภคปูแสมของคนไทยเท่ากับ 18,000 ตัน ต่อปี แต่ผลผลิตปูแสมของประเทศไทยประมาณ 12,000 ตันต่อปี ไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ จึงต้องนำเข้าปูแสมจากต่างประเทศ (บรรจง, 2552) ซึ่งแนวโน้มการขาดแคลนปูแสมเพื่อการบริโภคในประเทศจะมีมากยิ่งขึ้น 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)



ภาพที่ 1 ปูแสม *Episesarma versicolor* (Tweedie, 1940)

ที่มา: Lee *et al.* (2015)

แม้ว่าปูแสมชนิดนี้เป็นปูที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และมีแนวโน้มขาดแคลนไม่เพียงพอต่อการบริโภคของคนไทย เนื่องจากปูแสมที่ใช้บริโภคทั้งหมดได้จากการจับจากแหล่งอาศัยธรรมชาติในป่าชายเลน ดังนั้น การศึกษาวิจัยเพื่อฟื้นฟูประชากรปูแสมในแหล่งอาศัยธรรมชาติจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับประเทศไทย การฟื้นฟูประชากรปูแสมของประเทศไทยจำเป็นต้องดำเนินการหลายแนวทางที่ต้องทำควบคู่กัน เช่น การจัดการเกี่ยวกับการทำประมงปูแสม การรักษาป่าชายเลนอันเป็นแหล่งอาศัยของปูแสม และการผลิตลูกปูแสมที่ได้จากเพาะพันธุ์ในโรงเพาะฟักเพื่อปล่อยกลับสู่ธรรมชาติ ซึ่งการใช้มาตรการเพื่อการจัดการปูแสม ต้องอาศัยความรู้ด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูแสมเพื่อข้อมูลสนับสนุนในการออกระเบียบข้อบังคับ เช่น การพัฒนาของรังไข่ เป็นต้น การศึกษาด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูต่างๆ เป็นประเด็นที่นักวิจัยได้ให้ความสนใจ โดยเฉพาะปูที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (Hamasaki *et al.*, 2006) ดังปรากฏในรายงานวิจัยต่างๆ เช่น Brante *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2006; César *et al.*, 2007; Luppi *et al.*, 1997; Leme 2004; Rasheed and Mustaquim 2010; Oniam *et al.*, 2012; Ikhwanuddin *et al.*, 2012 เป็นต้น แต่จากการสืบค้นยังไม่พบรายงานการวิจัยเกี่ยวกับชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูแสม *E. versicolor*

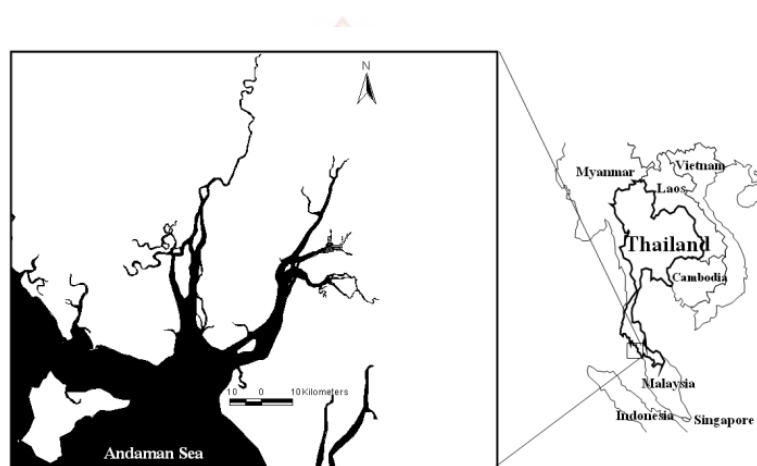
จากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น จึงได้ทำการวิจัยเกี่ยวกับพัฒนาการและองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ปูแสม *E. versicolor* ที่อาศัยในบริเวณป่าชายเลน จ. ตรัง โดยคาดว่าองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์กับชุมชนท้องถิ่นและหน่วยงานต่างๆ ที่มีบทบาทหน้าที่ในการอนุรักษ์จัดการปูแสม ซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่กำลังขาดแคลน ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อให้ประชากรปูแสมคงอยู่เพียงพอต่อการบริโภคของคนไทย และเป็นการเพิ่มความมั่นคงทางอาหารของประเทศไทย



วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างปูแสม

ทำการเก็บตัวอย่างปูแสม *E. versicolor* ในป่าชายเลนบริเวณจังหวัดตรัง (ภาพที่ 2) ในเวลากลางคืน ช่วงน้ำลง นำปูแสมที่จับได้ใส่ในถังขนาด 20 ลิตร ที่มีกิ่งไม้และใบไม้ชายเลนอยู่ข้างใน เพื่อลดการทำร้ายกัน ก่อนขนย้ายปูแสมไปยังห้องปฏิบัติการวิจัยปูน้ำเค็ม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย เพื่อทำการศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูแสมต่อไป



ภาพที่ 2 แหล่งเก็บตัวอย่างปูแสม *E. versicolor* บริเวณชายฝั่ง จังหวัดตรัง

2. การศึกษาพัฒนาการของรังไข่ปูแสม *E. versicolor*

ปูแสมที่ได้จากการสุ่มเก็บตัวอย่างทั้งหมดเป็นระยะเวลา 5 เดือน ประมาณ 600 ตัว มาวัดขนาดความกว้างกระดองปูแสม (Carapace Width; CW) ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์แบบดิจิทัลมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งดิจิทัลที่มีความละเอียด 0.01 กรัม แล้วจึงทำการศึกษารังไข่ (Ovary) ของปูแสม *E. versicolor* ระยะต่างๆ ที่สังเกตลักษณะภายนอก (External morphology) โดยการเปิดด้านบนของกระดอง แล้วใช้ปากคีบดึงเนื้อเยื่อที่ปิดทับส่วนด้านบนของรังไข่ เพื่อสังเกตลักษณะของรังไข่ (Ovary) โดยทั่วไปรังไข่ของปูอยู่บนส่วนของเฮปาโตแพนแครีซ (Hepatopancreas) แล้วจึงศึกษาพัฒนาการของรังไข่ โดยพิจารณาจากรูปร่าง สี และสัดส่วนระหว่างรังไข่กับตับอ่อน (Hepatopancreas) ตามเอกสารของ Negreiros-Fransozo *et al.* (2002)

สำหรับการศึกษาพัฒนาการของรังไข่ด้วยเทคนิคมิถุนวิทยา ได้ทำการสุ่มตัวอย่างปูแสมเพศเมียที่มีความกว้างกระดองตั้งแต่ 2.3 -3.5 เซนติเมตร เพื่อนำรังไข่ของปูแสมที่สังเกตเห็นพัฒนาการแตกต่างกันจากภายนอก ไปศึกษาทางเทคนิคมิถุนวิทยาตามวิธีของ Stewart *et al.* (2007) โดยนำรังไข่แช่ในสารละลาย Davidson's fixative (330 ml 95% ethyl alcohol, 220 ml 100% formalin, 115 ml glacial acetic acid และ 335 ml distilled H₂O) เป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิปกติ แล้วนำไปดำเนินการในกระบวนการมิถุนวิทยาตามเอกสารต่างๆ (Presnell and Schreibman, 1997; Suvarna *et al.*, 2013) โดยการขจัดน้ำ

(dehydration) ด้วย ethanol ที่ความเข้มข้นต่างๆ (70%-100%) แล้วจึงนำไป embed ด้วย paraffin ก่อนที่จะนำไปตัดด้วยเครื่อง rotary microtome ให้ได้ความหนา 4 μm แล้วนำไปติด (mounted) บนแผ่น สไลด์ หลังจากนั้นจึงย้อมสีต่างๆ เช่น Hematoxylin-Eosin, Masson's trichrome (MT), และ periodic acid Schiff reaction (PAS) แล้วจึงนำมาศึกษาลักษณะและการพัฒนาของรังไข่ ลักษณะเซลล์แบบต่างๆ ที่พบที่รังไข่ระยะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และถ่ายรูปลักษณะเซลล์แบบต่างๆ ด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล

3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ปูแสม *E. versicolor*

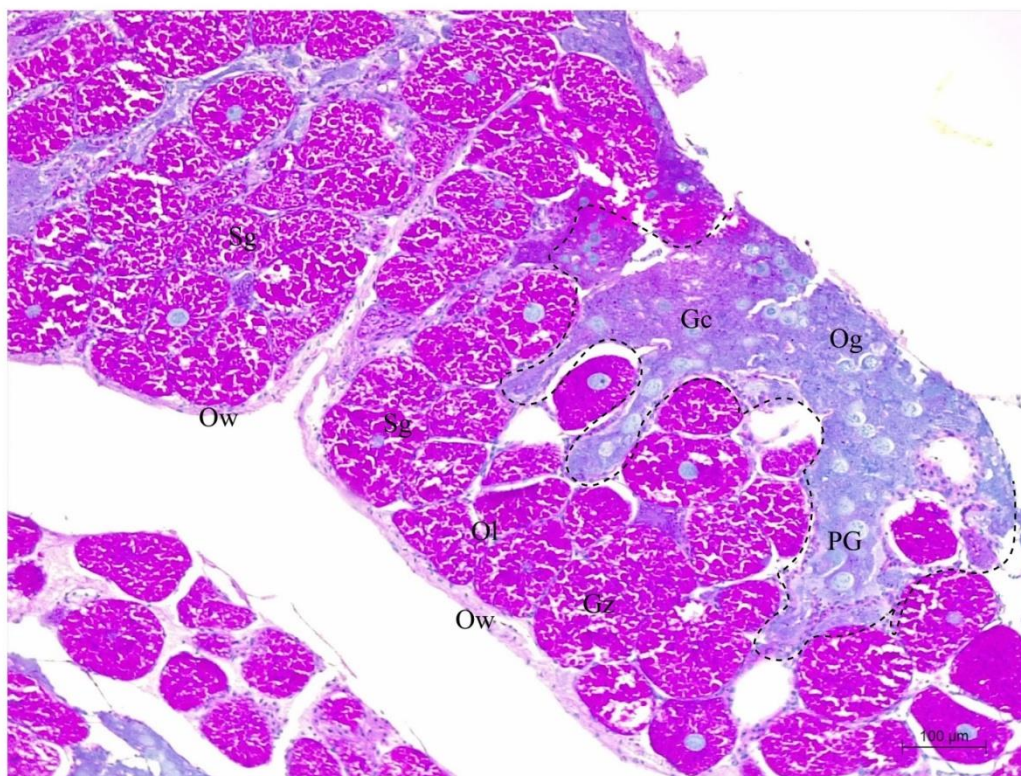
การศึกษารังไข่ของปูแสมที่เปลี่ยนแปลงจากวิธีที่นำเสนอในเอกสารของ Lemos and Rodriguez (1998); Tantikitti *et al.*, (2015) โดยนำรังไข่ของปูแสมเพศเมียระยะต่างๆ ที่ได้จาก จำแนกจากลักษณะภายนอก (External morphology) ที่แตกต่างกัน ไปศึกษาองค์ประกอบทางเคมี เช่น Fatty acid เป็นต้น



ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การศึกษาพัฒนาการของรังไข่ปูแสม *E. versicolor*

โครงสร้างรังไข่ของปูแสม *E. versicolor* วางตัวอยู่เหนือเฮปาโตแพนแครีซ (Hepatopancreas) และวางตัวคล้ายรูป H เมื่อนำเนื้อเยื่อรังไข่มาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบการจัดเรียงแบบพูจำนวนมาก (ovarian lobes) ดังภาพที่ 3 แต่ละพูถูกรับด้วยชั้นผนังรังไข่ (ovarian wall) และภายในมีโครงสร้าง 2 ส่วนย่อย คือ germinal center และ germinative zone โดยโครงสร้าง germinal center วางตัวอยู่ตรงกลาง ประกอบด้วยเนื้อเยื่อพัน และพัฒนาการของเซลล์ไข่ในระยะโอโอโกเนียม oogonium และระยะเซลล์ไข่ขั้นปฐมภูมิ (primary growth phase) ต่างจากส่วนของ germinative zones ประกอบด้วยระยะเซลล์ไข่ขั้นทุติยภูมิเท่านั้น (ภาพที่ 3) เช่นเดียวกับการรายงานในรังไข่ของครัสตาเซียนทั่วไป (Moyano et al., 2010; Ravi et al., 2013) เช่น ปูชนิด *Travancoriana schimerae* (Smija and Devi, 2015) ปูชนิด *Paratelpusa lamellifrons* (Sarker and Kumar, 2013) ปูชนิด *Libinia spinosa* (Moyano et al., 2010)



ภาพที่ 3 มิถุนวิทยาของรังไข่ปูแสม *E. versicolor* แสดงโครงสร้างของพुरुังไข่ (ovarian lobe, OL) จำนวนมาก แต่ละพูถูกรับด้วยชั้นผนังรังไข่ (ovarian wall, Ow) และภายในประกอบด้วย 1. germinal center (Gc) มีโอโอโกเนีย (Oogonia, Og) และระยะเซลล์ไข่ขั้นปฐมภูมิ (primary growth phase, SG) และ

2. germinal zone (Gz) ประกอบด้วยระยะเซลล์ไข่ขั้นทุติยภูมิ (secondary growth phase, SG).

พัฒนาการของเซลล์ไข่ (Differentiations of oocytes during oogenesis)

หากพิจารณาพัฒนาของเซลล์ไข่ของสัตว์น้ำกลุ่มเตคาพอด (decapods) ชนิดต่างๆ สามารถใช้การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา และโครงสร้างทางมิถุวิทยา (Silva Castiglioni *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2018; Arcos-Ortega *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2019) ตลอดจนโครงสร้างละเอียดเป็นเกณฑ์ (Ravi *et al.*, 2013; Molleberg *et al.*, 2017) ในการศึกษาครั้งนี้สามารถจำแนกพัฒนาของเซลล์ไข่ในปูสม *E. versicolor* โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างด้านมิถุวิทยา รูปร่างเซลล์รูปร่างนิวเคลียส และโครงสร้างพิเศษที่เกิดขึ้นระหว่างพัฒนาการของเซลล์ไข่ ได้เป็น 5 ระยะ ได้แก่ ระยะโอโอเนีย (oogonia, Og) ระยะเซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดง (previtellogenic oocytes, Oc I) ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นต้น (early vitellogenic oocytes, Oc II) ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นปลาย (late vitellogenic oocytes, Oc III) และระยะเซลล์ไข่ระยะขั้นสมบูรณ์ (mature oocytes, Oc IV) (ภาพที่ 4-5)

ระยะโอโอเนีย (Oogonium stage; Og)

ระยะโอโอเนียเป็นเซลล์แรกสุดที่พัฒนาจากไพมอร์เตียล เจิร์ม เซลล์ (primordial germ cells) และอยู่ใน germinal center คล้ายคลึงกับรายงานของ Krol *et al.* (1992) พบว่าระยะโอโอเนียพบได้บริเวณส่วนตรงกลางของรังไข่ในกลุ่มครัสตาเซีย สำหรับระยะโอโอเนียมีรูปร่างคล้ายทรงกลมและมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 10.23 ± 0.98 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4A-4B) และพัฒนาอยู่ภายในถุงโอโอเนีย (oogonial cyst) (ภาพที่ 2B) นิวเคลียสมีขนาดใหญ่และสังเกตเห็นเฮเทอโรโครมาทิน (heterochromain) เป็นองค์ประกอบและล้อมรอบด้วยไซโทพลาซึมติดสีม่วงอ่อน (ภาพที่ 4B)

ระยะเซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดง (Previtellogenic oocyte stage; Oc I)

เซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดงพัฒนามาจากโอโอเนีย ที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอติก (mitotic division) แยกเป็น 2 ระยะย่อย คือ เซลล์ไข่ขั้นแรกของการสะสมไขมัน (Early development of oil droplet oocyte stage I, EOc I) (ภาพที่ 4C-4D) และเซลล์ไข่ขั้นปลายของการสะสมไขมัน (Late development of oil droplet oocyte stage II) การพัฒนาเริ่มต้นของ EOc I มีรูปร่างกลม และมีขนาดเซลล์ใหญ่ขึ้น เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 25.09 ± 0.72 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4C) มีการกระจายตัวตามกลางเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (ภาพที่ 4C) สำหรับนิวเคลียสของระยะนี้อยู่ตรงกลางเซลล์ ติดสีม่วงจาง และประกอบด้วยนิวคลีโอลัส 1 อัน (ภาพที่ 4C) ส่วนไซโทพลาซึมติดสีม่วงอ่อน บางบริเวณเริ่มพบหยดไขมัน (lipid droplets) ขนาดเล็กมาก แต่ไม่ชัดเจน (ภาพที่ 4C) ทั้งนี้ชั้นเซลล์ฟอลลิคูล่า (follicular cells) เริ่มพัฒนาขึ้น แต่ยังไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 4C) หลังจากนั้นระยะนี้จะพัฒนาเข้าสู่เซลล์ไข่ขั้นปลายของการสะสมไขมัน พบว่ามีขนาดที่ใหญ่ขึ้น เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 56.02 ± 0.82 ไมโครเมตร และมีการสะสมของ

หดยไขมันเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน (ภาพที่ 4D) แต่พัฒนาการของชั้นเซลล์พอลิคูล่ายังเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง (ภาพที่ 4D)

ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นต้น (Early vitellogenic oocyte stage; Oc II)

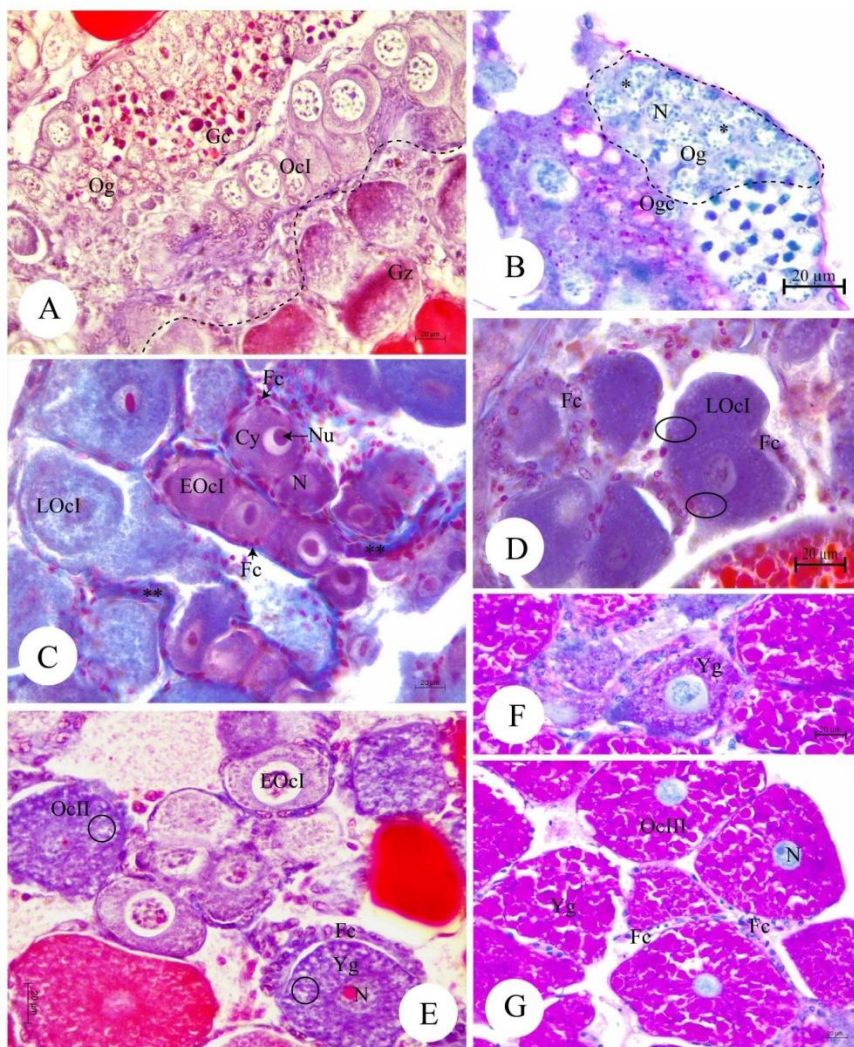
เซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นต้นเป็นระยะที่พัฒนาอย่างรวดเร็วมาก เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 86.09 ± 0.77 ไมโครเมตร เนื่องจากเริ่มสะสมไข่แดง (yolk granules) และทำให้ไซโทพลาซึมติดสีชมพูมากขึ้น (ภาพที่ 4E-4F) ทั้งนี้หดยไขมันยังสามารถพบและกระจายเด่นในบริเวณขอบของไซโทพลาซึม (ภาพที่ 2E) นิวเคลียสไม่มีรูปร่างและยังคงอยู่ตรงกลางของเซลล์ไข่ (oocyte) (ภาพที่ 4E-4F) ซึ่งคล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ไข่ของครัสตาเซียน (Fainzilber *et al.*, 1992; Riley and Tsukimura, 1998; Zara, *et al.*, 2013) สำหรับชั้นเซลล์พอลิคูล่าเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและรูปร่าง (ภาพที่ 4E) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เชื่อมโยงถึงการสะสมของไข่แดง (Ravi *et al.*, 2013)

ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นปลาย (Late vitellogenic oocyte stage; Oc III)

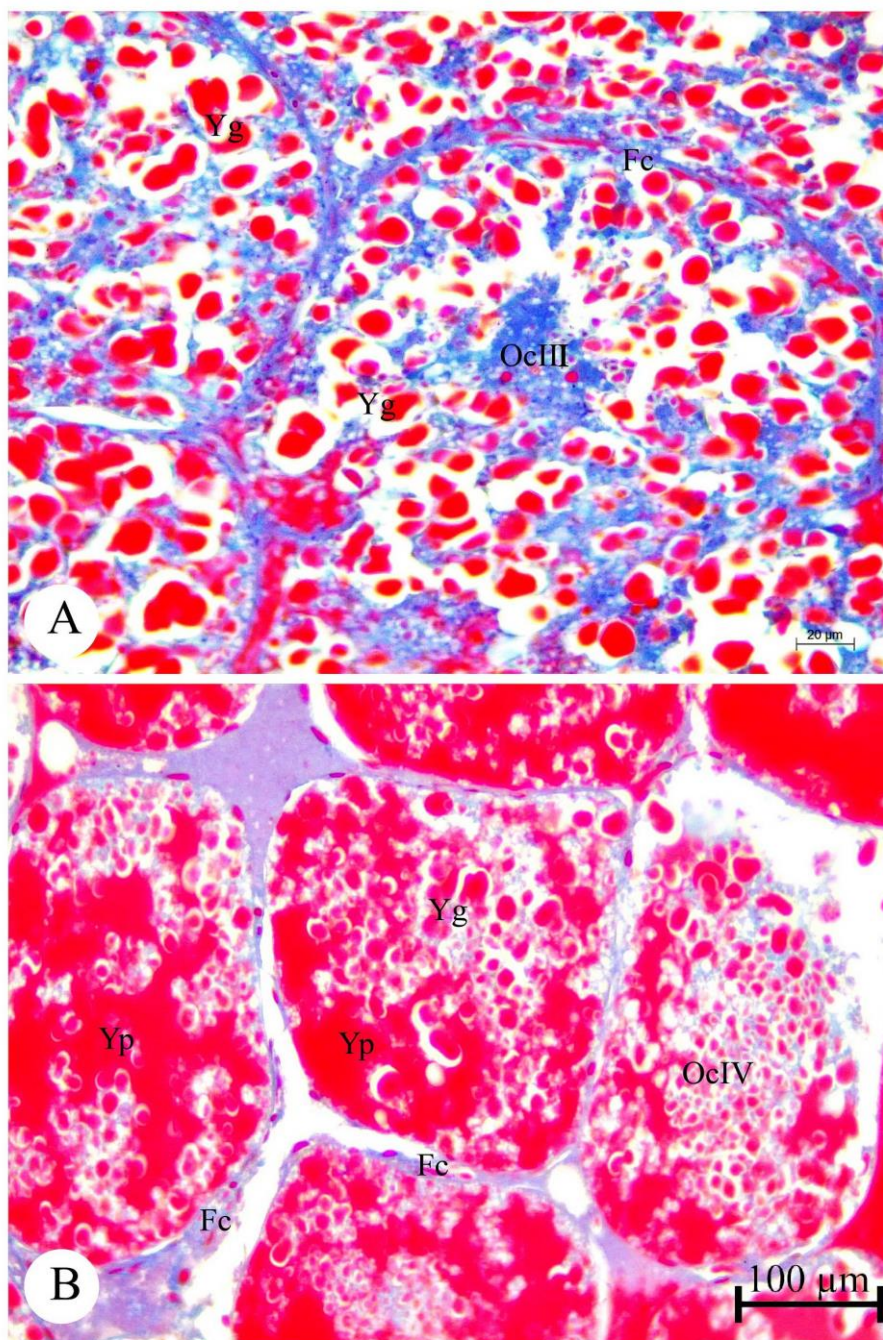
เซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นปลายมีการเพิ่มขึ้นของขนาดเซลล์ เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 151.20 ± 0.98 ไมโครเมตร เพราะมีการสะสมของไข่แดงเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 4G) ต่างจากนิวเคลียสมีรูปร่างไม่คงที่ และมีขนาดลดลง และเคลื่อนที่ไปยังส่วน animal pole (ภาพที่ 4G) สัดส่วนระหว่างนิวเคลียสและไซโทพลาซึมลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้พบได้เช่นเดียวกับเซลล์ไข่ของกุ้งก้ามกราม *M. rosenbergii* (Meeratana and Sobhon, 2007) ปูม้า *P. pelagicus* และปูแสม *S. serrata* (Stewart *et al.*, 2007) สำหรับเซลล์พอลิคูล่ามีนิวเคลียสแบนลงและยังคงเรียงตัวล้อมรับเซลล์ไข่ (ภาพที่ 4G)

ระยะเซลล์ไข่ระยะไข่ขั้นสมบูรณ์ (Mature oocyte stage, Oc IV)

ระยะนี้จะเป็นระยะเซลล์ไข่เจริญขั้นสมบูรณ์ มีรูปร่างกลมและมีขนาดใหญ่ที่สุด เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 165.43 ± 1.23 ไมโครเมตร ยังสังเกตเห็นว่านิวเคลียสมีขนาดเล็กมากและจำแนกขอบเขตได้ไม่ชัดเจน ไซโทพลาซึมติดสีแดง (MT staining method) เนื่องจากบรรจุด้วยไข่แดงเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 5B) และบางบริเวณพบการรวมกันของไข่แดงกลายเป็น yolk platelets (ภาพที่ 5B) สำหรับเซลล์พอลิคูล่ามีนิวเคลียสแบน และเรียงตัวเป็นชั้นเดียว (ภาพที่ 5B) แต่บางบริเวณเกิดการแยกออกจากเซลล์ไข่



ภาพที่ 4 พัฒนาการของเซลล์ไข่ปูแสม *E. versicolor* ประกอบด้วยโอโอเนีย (oogonia, Og) เซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดง (previtellogenic oocytes, Ocl) เซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นต้น (early vitellogenic oocytes, EOcl) เซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นปลาย (late vitellogenic oocytes, LOcl) และเซลล์ไข่ระยะไข่ชั้นสมบูรณ์ (mature oocytes, Oc IV) หมายถึง Asterisks = connective tissue, Cy = cytoplasm, Fc = follicular cells, Gc = germinal center, Gz = germinative zone, Cycles = lipid droplets, N = nucleus, Nu = nucleolus, Yg = yolk granules.



ภาพที่ 5 พัฒนาการของเซลล์ไข่ปูแสม *E. versicolor* ประกอบด้วยเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดง
 ชั้นปลาย (OcIII) [A] และเซลล์ไข่ระยะไข่ชั้นสมบูรณ์ (mature oocytes, Oc IV)
 หมายถึง Fc = follicular cell, Yg = yolk granule, Yp = yolk plate.

ลักษณะของสีและการเปลี่ยนแปลงทางมิถุนวิทยาของรังไข่ในระหว่างฤดูสืบพันธุ์ (Color characterization and histological changes of ovaries during reproductive cycle)

จากการพิจารณาลักษณะของรูปร่างรังไข่ สัดส่วนของเซลล์ไข่ และลักษณะทางมิถุนวิทยา สามารถแบ่งการเจริญของรังไข่ออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ (1) immature stage (2) developing stage (3) developed stage และ (4) mature stage (ภาพที่ 6-7) ซึ่งระยะเจริญของรังไข่เหล่านี้สามารถพบได้ในปูชนิด *Chionoecetes opilio* (Beninger *et al.*, 1993) ปูชนิด *Libinia emarginata* (Hinsch and Cone, 1969) ปูม้า *P. pelagicus* (Sumpton *et al.*, 1994) ปูทะเล *S. paramamosain* (Tantikitti *et al.*, 2015) และ กุ้งก้ามกราม *M. rosenbergii* (Meeratana and Sobhon, 2007)

1. Stage I: Immature stage of ovary

สัณฐานวิทยาของรังไข่ในระยะนี้มีขนาดเล็กและมีสีใส (ภาพที่ 6A) จึงทำให้สังเกตตำแหน่งและขอบเขตของการวางตัวได้ยาก เมื่อพิจารณาจากลักษณะมิถุนวิทยาพบว่า ประกอบด้วยเซลล์โอโอโกเนีย และเซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดงเท่านั้น เรียงตัวอยู่ในบริเวณ germinal center (ภาพที่ 6B)

2. Stage II: Developing stage of ovary

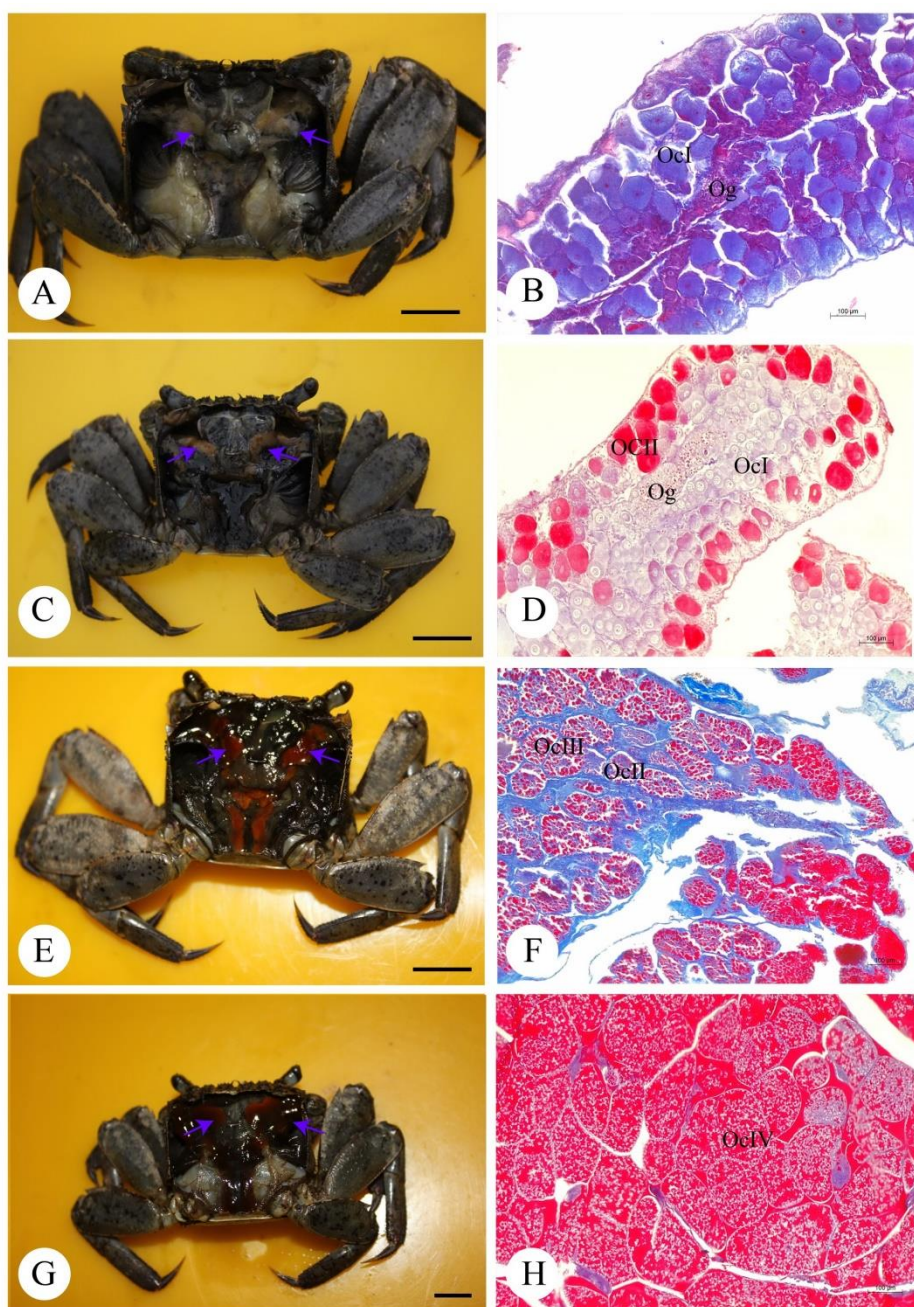
สัณฐานวิทยาของรังไข่เจริญอย่างรวดเร็ว และเปลี่ยนกลายเป็นสีขาวครีมอย่างชัดเจน (creamy-white color (ภาพที่ 6C)) ภายในรังไข่พบโอโอเนีย เซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดงเด่น แต่เริ่มพบเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขึ้นต้น (ภาพที่ 6D)

3. Stage III: Developed stage of ovary

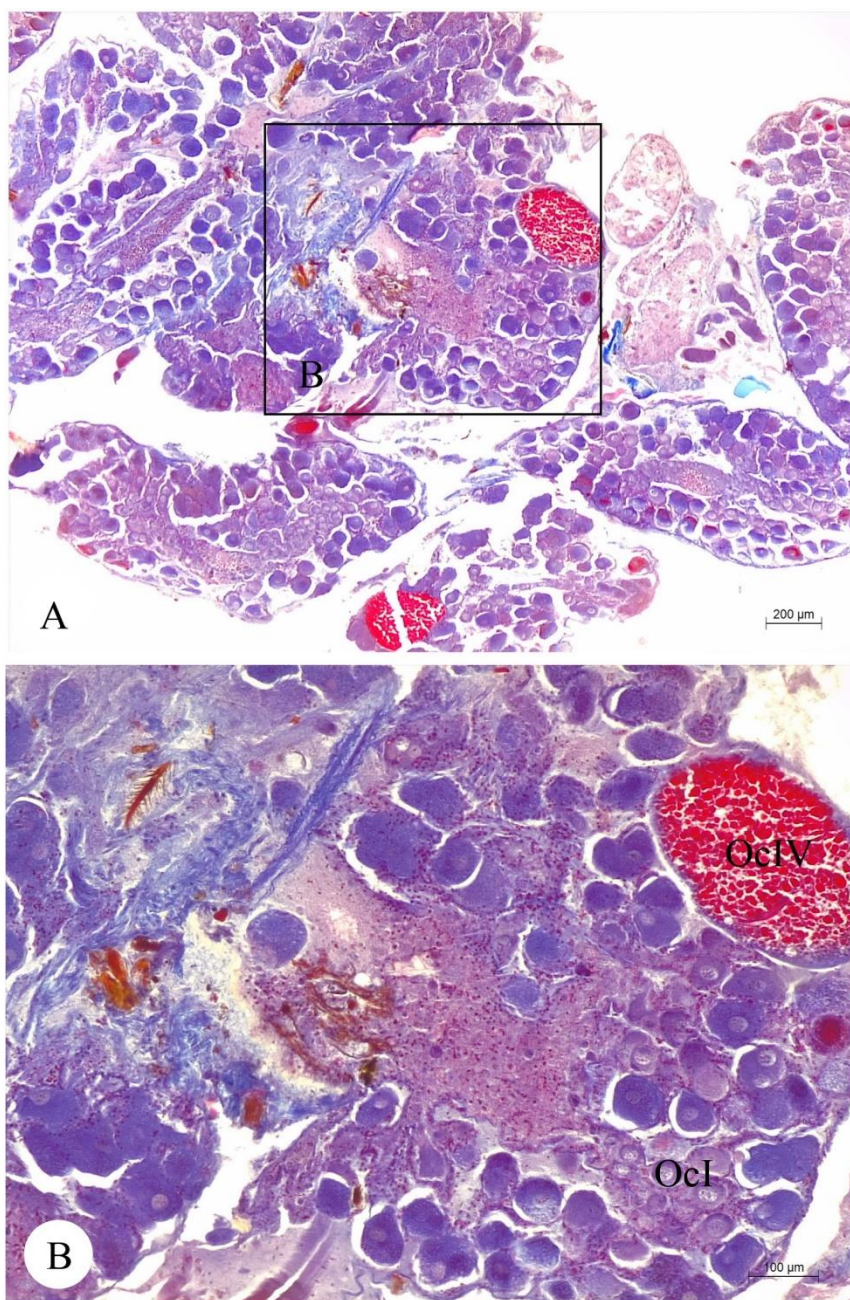
สัณฐานวิทยาของรังไข่เจริญอย่างรวดเร็ว พร้อมกับการเปลี่ยนแปลงของสีรังไข่กลายเป็นสีส้มอ่อน (ภาพที่ 6E) และปกคลุมเกินครึ่งหนึ่งของเฮปาทอแพนเครียส ภายในเนื้อเยื่อรังไข่พบการสะสมของเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขึ้นต้น เซลล์ไข่ระยะสะสมและไข่แดงขึ้นปลายเป็นจำนวนมาก (ภาพ 6F)

4. Stage IV: Mature stage of ovary

สัณฐานวิทยาของรังไข่กลายเป็นระยะที่เจริญขั้นสูงสุด มีสีส้มเข้มและแยกจากอวัยวะอื่นๆ อย่างชัดเจน (Figure 6G) คล้ายคลึงกับการเจริญของรังไข่ในปูชนิด *Portunus sanguinolentus* (Ryan, 1967) ปูชนิด *Carcinus maenas* (Laulier and Demeusy, 1974) และปูก้ามดาบ *Uca rapax* (Castiglioni *et al.*, 2007) ดังนั้นระยะนี้จึงมีเซลล์ไข่ระยะขึ้นสมบูรณ์ เต็มและมีจำนวนมาก (ภาพที่ 6H)



ภาพที่ 6 การเจริญของรังไข่ปูแสม *E. versicolor*. A-B: Immature stage, C-D: Developing stage, E-F: Developed stage, G-H: Mature stage
 หมายถึง Og = oogonia, Oc I = pre-vitellogenic stage, Oc II = early vitellogenic stage, Oc III = late vitellogenic stage, Oc IV = mature oocyte stage.



ภาพที่ 7 การเจริญของรังไข่ปูแสม *E. versicolor* ระยะ immature stage (A-B) ก็กับการพบเซลล์ไข่ระยะขั้นสมบูรณ์ (mature stage, Oc IV) หมายเหตุ Oc I = previtellogenic stage (Oc I)

2. องค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ปูแสม *E. versicolor*

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ (ovary) ของปูแสมชนิดนี้ พบกรดไขมัน (Fatty Acid) สะสมในรังไข่ระยะต่างๆ 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 (DHA) (C22:6n3) เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 กรดไขมันที่พบสะสมในรังไข่ (Ovary) ของปูแสม *E. versicolor*

กรดไขมัน (Fatty Acid)	รังไข่ (ระยะ 1)	รังไข่ (ระยะ 2)	รังไข่ (ระยะ 3)	รังไข่ (ระยะ 4)
Myristic acid (C14:0)	+	+	+	+
Pentadecanoic acid (C15:0)	+	+	+	+
Palmitic acid (C16:0)	+	+	+	+
Palmitoleic acid (C16:1)	+	+	+	+
Heptadecanoic acid (C17:0)	+	+	+	+
cis-10-Heptadecenoic acid(C17:1)	+	+	+	+
Stearic acid (C18:0)	+	+	+	+
Oleic acid (C18:1n9c)	+	+	+	+
Linoleic acid (C18:2n6c)	+	+	+	+
Alpha Unolenic Acid (ALA) (C18:3n3)	+	+	+	+
Arachidonic acid (C20:4n6)	+	+	+	+
Eicosapentaenoic acid (C20:5n3) (EPA)	+	+	+	+
Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6n3)	+	+	+	+

กรดไขมันมีบทบาทต่อตัวอ่อนคริสต์เตเซียน เช่นตัวอ่อนของปูและกุ้งชนิดต่างๆ หากมีกรดไขมันต่ำหรือไม่เพียงพอกับความต้องการของตัวอ่อนคริสต์เตเซียน มีผลลดการเติบโต การมีชีวิตรอด ความต้านทานโรคของตัวอ่อนคริสต์เตเซียน และส่งผลให้ระยะพัฒนาการของตัวอ่อนคริสต์เตเซียนนานกว่าปกติ (Mourente and Rodriguez 1997, Takeuchi *et al.* 1999a-c, D'Souza and Kelly, 2000)

กรดไขมันเป็นองค์ประกอบสำคัญของฟอสโฟไลปิด (phospholipids) ซึ่งมีความสำคัญคือเป็นองค์ประกอบเนื้อเยื่อเซลล์ (cell membranes) และมีบทบาทในการเคลื่อนย้ายไลปิดร่วมกับโปรตีน (high-density lipoproteins) และยังช่วยเคลื่อนย้ายคอเลสเตอรอล (cholesterol) จากตับอ่อน (hepatopancreas) เข้าสู่เลือด (Anger, 2001) จึงพบการสะสมของกรดไขมันเหล่านี้ในรังไข่ของคริสต์เตียนกลุ่มต่างๆ (Teshima and Kanazawa 1983, Jeckel *et al.* 1989 a, b, Tantikitti, *et al.* 2015) ตัวอ่อน

ของปูได้รับกรดไขมันที่ถูกส่งผ่านจากแม่พันธุ์ ดังรายงานการสะสมกรดไขมันในรังไข่ปูเพศเมียชนิดต่างๆ เช่น กรดไขมันสำคัญที่สะสมที่ตับอ่อนและรังไข่ของปูทะเลเพศเมีย (*Scylla paramamosain* ได้แก่ Palmitic acid (C16:0) และ Oleic acid (C18:1n9c) ถูกพบเป็นแหล่ง) (Tantikitti, *et al.* 2015) ส่วนกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (C20:5n3) และ Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6n3) มีความสำคัญต่อการเติบโตของตัวอ่อนปูและครีस्ताเขียนต่างๆ (Jones *et al.* 1997, Sulkin and McKeen 1999) ดังนั้นการพบกรดไขมันในรังไข่ระยะต่างๆ ของปูแสมชนิดนี้ จึงเป็นการยืนยันการลงทุนในการสืบพันธุ์ (reproductive investment) ของปูเพศเมีย



สรุปผลการวิจัย

1. พัฒนาการของรังไข่ปูแสม *E. versicolor*

โครงสร้างรังไข่ของปูแสม *E. versicolor* วางตัวคล้ายรูป H อยู่เหนือเฮปาโตแพนแครีอัส (Hepatopancreas) และมีการจัดเรียงแบบพู่จำนวนมาก (ovarian lobes) แต่ละพู่ (lobe) ถูกหุ้มด้วยชั้นผนังรังไข่ (ovarian wall) โดยภายในมีโครงสร้าง 2 ส่วนย่อย คือ germinal center และ germinative zone และสามารถจำแนกพัฒนาการของเซลล์ไข่ (Differentiations of oocytes during oogenesis) ของปูแสม *E. versicolor* ได้เป็น 5 ระยะ ได้แก่ ระยะโอโอเนีย (oogonia; Og) ระยะเซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดง (previtellogenic oocytes; Oc I) ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นต้น (early vitellogenic oocytes; Oc II) ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นปลาย (late vitellogenic oocytes; Oc III) และระยะเซลล์ไข่ระยะขั้นสมบูรณ์ (mature oocytes; Oc IV)

ระยะโอโอเนีย (Oogonium stage; Og)

ระยะโอโอเนียเป็นเซลล์แรกสุดที่พัฒนาจากไทมอร์เดียล เจิร์ม เซลล์ (primordial germ cells) และอยู่ใน germinal center มีรูปร่างคล้ายทรงกลมและเซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 10.23 ± 0.98 ไมโครเมตร และพัฒนาอยู่ภายในถุงโอโอเนีย (oogonial cyst) นิวเคลียสมีขนาดใหญ่และสังเกตเห็นเฮเทอโรโครมาทิน (heterochromatin) เป็นองค์ประกอบ และล้อมรอบด้วยไซโทพลาซึม (cytoplasm) ติดสีม่วงอ่อน

ระยะเซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดง (Previtellogenic oocyte stage; Oc I)

เซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดงพัฒนามาจากโอโอเนีย แยกเป็น 2 ระยะย่อย คือ เซลล์ไข่ขั้นแรกของการสะสมไขมัน (Early development of oil droplet oocyte stage I, EOc I) และเซลล์ไข่ขั้นปลายของการสะสมไขมัน (Late development of oil droplet oocyte stage II) การพัฒนาเริ่มต้นของ EOc I เซลล์ไข่ มีรูปร่างกลม และมีขนาดเซลล์ใหญ่ขึ้น เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 25.09 ± 0.72 ไมโครเมตร มีการกระจายตัวทามกลางเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน สำหรับนิวเคลียสของระยะนี้อยู่ตรงกลางเซลล์ ติดสีม่วงจาง และประกอบด้วยนิวคลีโอลัส 1 อัน ส่วนไซโทพลาซึมติดสีม่วงอ่อน บางบริเวณเริ่มพบหยดไขมัน (lipid droplets) ขนาดเล็กมาก แต่ไม่ชัดเจน ทั้งนี้ชั้นเซลล์ฟอลลิคูล่า (follicular cells) เริ่มพัฒนาขึ้น แต่ยังไม่สมบูรณ์ หลังจากนั้นระยะนี้จะพัฒนาเข้าสู่เซลล์ไข่ขั้นปลายของการสะสมไขมัน ((Late development of oil droplet oocyte stage II) พบเซลล์ไข่มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 56.02 ± 0.82 ไมโครเมตร และมีการสะสมของหยดไขมันเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน (ภาพที่ 2D) แต่พัฒนาการของชั้นเซลล์ฟอลลิคูล่ายังเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง

ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นต้น (Early vitellogenic oocyte stage; Oc II)

เซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นต้นเป็นระยะที่พัฒนาอย่างรวดเร็วมาก เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 86.09 ± 0.77 ไมโครเมตร เนื่องจากเริ่มสะสมไข่แดง (yolk granules) และทำให้ไซโทพลาซึมติดสีชมพูมากขึ้น พบหยดไขมันและกระจายเด่นในบริเวณขอบของไซโทพลาซึม นิวเคลียสมีรูปร่างไม่แน่ชัดและยังอยู่ตรงกลางของเซลล์ไข่ (oocyte)

ระยะเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นปลาย (Late vitellogenic oocyte stage; Oc III)

เซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขั้นปลาย มีการเพิ่มขึ้นของขนาดเซลล์ เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 151.20 ± 0.98 ไมโครเมตร เพราะมีการสะสมของไข่แดงเป็นจำนวนมาก ต่างจากนิวเคลียสที่มีรูปร่างไม่คงที่และมีขนาดลดลง และเคลื่อนที่ไปยังส่วน animal pole สำหรับเซลล์ฟอลลิคูล่ามีนิวเคลียสแบนลงและยังคงเรียงตัวล้อมรับเซลล์ไข่

ระยะเซลล์ไข่ระยะไข่ขั้นสมบูรณ์ (Mature oocyte stage, Oc IV)

เซลล์ไข่ระยะนี้เป็นระยะเจริญขั้นสมบูรณ์ เซลล์ไข่มีรูปร่างกลมและมีขนาดใหญ่ที่สุด เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 165.43 ± 1.23 ไมโครเมตร ส่วนนิวเคลียสมีขนาดเล็กมากและจำแนกขอบเขตได้ไม่ชัดเจน ไซโทพลาซึมติดสีแดง (MT staining method) เนื่องจากบรรจุด้วยไข่แดงเป็นจำนวนมาก และบางบริเวณพบการรวมกันของไข่แดงกลายเป็น yolk platelets สำหรับเซลล์ฟอลลิคูล่ามีนิวเคลียสแบน และเรียงตัวเป็นชั้นเดียว แต่บางบริเวณเกิดการแยกออกจากเซลล์ไข่

ลักษณะของสีและการเปลี่ยนแปลงทางมิถุนวิทยาของรังไข่ในระหว่างฤดูสืบพันธุ์

(Color characterization and histological changes of ovaries during reproductive cycle)

จากการพิจารณาลักษณะของรูปร่างรังไข่ สัดส่วนของเซลล์ไข่ และลักษณะทางมิถุนวิทยา สามารถแบ่งการเจริญของรังไข่ออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ (1) immature stage (2) developing stage (3) developed stage และ (4) mature stage

Stage I: Immature stage of ovary

สัณฐานวิทยาของรังไข่ในระยะนี้มีขนาดเล็กและมีสีใส จึงทำให้สังเกตตำแหน่งและขอบเขตของการวางตัวได้ยาก เมื่อพิจารณาจากลักษณะมิถุนวิทยาพบว่า ประกอบด้วยเซลล์โอโอโกเนีย และเซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดงเท่านั้น เรียงตัวอยู่ในบริเวณ germinal center

Stage II: Developing stage of ovary

สัณฐานวิทยาของรังไข่เจริญอย่างรวดเร็ว และเปลี่ยนกลายเป็นสีขาวยาวอย่างชัดเจน (creamy-white color) ภายในรังไข่พบโอโอเนีย เซลล์ไข่ระยะก่อนสะสมไข่แดงเด่น แต่เริ่มพบเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขึ้นต้น

Stage III: Developed stage of ovary

สัณฐานวิทยาของรังไข่เจริญอย่างรวดเร็ว พร้อมกับการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานของรังไข่กลายเป็นสีส้มอ่อน และปกคลุมเกินครึ่งหนึ่งของเฮปาทอปานครีเยส ภายในเนื้อเยื่อรังไข่พบการสะสมของเซลล์ไข่ระยะสะสมไข่แดงขึ้นต้น เซลล์ไข่ระยะสะสมและไข่แดงขึ้นปลายเป็นจำนวนมาก

Stage IV: Mature stage of ovary

สัณฐานวิทยาของรังไข่กลายเป็นระยะที่เจริญขึ้นสูงสุด มีสีส้มเข้มและแยกจากอวัยวะอื่นๆ อย่างชัดเจน

2. องค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ปูแสม *E. versicolor*

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรังไข่ (ovary) ของปูแสมชนิดนี้ พบกรดไขมัน (Fatty Acid) สะสมในรังไข่ระยะต่างๆ 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 (DHA) (C22:6n3) เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- ด่านตรวจสัตว์น้ำจังหวัดตราด. กรมประมง. 2559. สรุปข้อมูลการนำเข้า - ส่งออกสินค้าสัตว์น้ำ ซากสัตว์น้ำใน
แต่ ละ ปี ง บ ปร ะ ม า ณ . ด ำ น ต ร ว จ ส ัต ว์ น ้ำ จ ำ ง ห วั ด ต ร า ด . กรม ประ ม ง . เ ว บ ไ ซ ต์ :
<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)
- บรรจง เทียนสงรัมย์. 2552. ปูแสม.กำลังวิกฤติ ร่วมคิดร่วมเลี้ยงปู ดูแลป่า แก้ปัญหา พัฒนาป่าชุมชน.
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) กรุงเทพฯ. 104 หน้า
- Arcos-Ortega, G.F., Serrano-Silvas, S.R., Rodríguez-Jaramillo, C., Acuña-Gómez, E.P. Schofield-
Astorga, D.C. and Olave-Solar, C.D. 2019. Oogenesis of *Lithodes santolla*: histological
and histochemical characterization. Latin american journal of aquatic research. 47: 480-
491.
- Adiyodi, R.G. 1985. Reproduction and its control. The Biology of Crustacea V8 (pp. 147-215).
Academic Press. New York.
- Anger, K. 2001. The Biology of Decapod Crustacean Larvae, Crustacean Issues 14, A.A.
Balkema, The Netherlands: 419 pp.
- Brante, A., Fernández, M., Eckerle, L., Mark, F., Poörtner, H.-O., and Arntz, W. 2003 .
Reproductive investment in the crab *Cancer setosus* along a latitudinal line: egg
production, embryo losses and embryo ventilation. Marine Ecology Progress Series
251: 221–232.
- Beninger, P.G., Lanteigne, C., and Elnor, R.W. (1993). Reproductive processes revealed by
spermatophore dehiscence experiments and by histology, ultrastructure, and
histochemistry of the female reproductive system in the snow crab *Chionoecetes*
opilio (O. Fabricius). Journal of Crustacean Biology 13: 1-16.
- Castiglioni, D.S., Negreiros-Fransozo, M.L., LópezGreco, I.S., Silveira, A.F. and Silveira, S.O.
2007. Gonad development in females of fiddler crab *Uca rapax* (Crustacea, Brachyura,
Ocypodidae) using macro and microscopic techniques. Iheringia, Série Zoologia, 97(4):
505-510.
- César, II., Arnedariz, L.C. and Becerra, R.V. 2007 .Fecundity of *Uca uruguayensis* and
Chasmagnathus granulatus (Decapoda, Brachyura) from the “Refugio de Vida Silvestre”
Bahía Samborombón. Argentina. Brazilian Journal of Biology 67(4): 749-753.

- 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). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49(1): 117-123.
- D'Souza, F.M.L. and Kelly, G.J. 2000. Effects of a diet of a nitrogen-limited alga (*Tetraselmis suecica*) on growth, survival and biochemical composition of tiger prawn (*Penaeus semisulcatus*) larvae. *Aquaculture* 181: 311-329.
- Fainzilber, M., Tom, M., Shafir, S., Applebaum, S.W., and Lubzens, E. (1992). Is there extraovarian synthesis of vitellogenesis in penaeid shrimp. *Biol. Bull.* 183, 233-254.
- Hamasaki, K., Fukunaga, K., and Kitada, S. 2006. Batch fecundity of the swimming crab *Portunus trituberculatus* (Brachyura: Portunidae). *Aquaculture* 253: 359-365.
- Hinsch, G. W., and Cone, M. V. (1969). Ultrastructural Observations of Vitellogenesis in the Spider Crab, *Libinia Emarginata* L. *The Journal of Cell Biology* 40(2): 336-342.
- 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. *Pakistan Journal of Biological Science* 15(15): 720-728.
- Jeckel, W.H., Aizpun de Moreno, J.E., and Moreno, V.J. 1989a. Biochemical composition, lipid classes and fatty acids in the male reproductive system of the shrimp *Pleoticus muelleri* Bate. *Comparative Biochemistry and Physiology* 93B: 807-811.
- Jeckel, W.H., Aizpun de Moreno, J.E., and Moreno, V.J. 1989b. Biochemical composition, lipid classes and fatty acids in the ovary of the shrimp *Pleoticus muelleri* Bate. *Comparative Biochemistry and Physiology* 92B: 271-276.
- Jones, D.A., Yule, A.B., and Holl, D.L. 1997. Larval nutrition. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. & Akiyama, D.M. (eds), *Advances in World Aquaculture 6; Crustacean Nutrition*: 353-389.
- Krol, R. M.; Hawkins, W. E. and Overstreet, R. M. 1992. Reproductive components. In: HARRISON, F. W. & HUMES, A. G. eds. *Microscopic anatomy of invertebrates*. (10). New York, Wiley-Liss. P 295-344.
- Laulier, M. and Demeusy, N. 1974. Étude histologique du fonctionnement ovarien au cours d'une maturation de ponte chez le crabe *Carcinus maenas* L. (Crustacé, Décapode). *Cahiers de Biologie Marine* 15(3): 343-354.

- Lee, B. Y., Ng, N. K., and Ng, P. K. 2015. The taxonomy of five species of *Episesarma* De Man, 1895, in Singapore (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Sesarmidae). *The Raffles Bulletin of Zoology, Supplement 31*: 199–215.
- Leme, M.H.A. 2004. Fecundity and fertility of the mangrove crab *Sesarma rectum* Randall, 1840 (Grapsoidae) from Ubatuba, São Paulo, Brazil. *Nauplius 12*: 39-44.
- Lemos, D., and Rodriguez, A. 1998. Nutritional effects on body composition, energy content and trypsin activity of *Penaeus japonicus* during early postlarval development. *Aquaculture 160*: 103–116.
- Luppi, T.A. Bas, C.C., Spivak, E.D. and Anger, K. 1997. Fecundity of two grapsid crab species in the Laguna Mar Chiquita. Argentina. *Archive of fishery and marine research 45(2)*: 149-166.
- Meeratana, P., and Sobhon, P. (2007). Classification of differentiating oocytes during ovarian cycle in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* de man. *Aquaculture 270*: 249-258.
- Mollemberg, M., Zará, F. J., and Santana, W. (2017). Morphology and ultrastructure of the adult ovarian cycle in Mithracidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Majoidea). *Helgoland Marine Research 71(1)*: 14. <https://doi.org/10.1186/s10152-017-0494-y>
- Mourente, G. and Rodríguez, A. 1997. Effects of salinity and dietary DHA (22:6n-3) content on lipid composition and performance of *Penaeus kerathurus* postlarvae. *Marine Biology 128*: 289-298.
- Moyano, M.P., Gavio, M.A. and Cuartas, E.I. 2010. Morphology and function of the reproductive tract of the spider crab *Libinia spinosa* (Crustacea, Brachyura, Majoidea): pattern of sperm storage. *Helgoland Marine Research 64*: 213-221.
- Negreiros-Fransozo, M.L., Fransozo, A., and Bertini, G. 2002. Reproductive cycle and recruitment period of *Ocypode quadrata* (Decapoda, Ocypodidae) at a sandy beach in Southern Brazil. *Journal of Crustacean Biology 22(1)*: 157-161.
- Nieves, P.M., Olfindo, N.R., and Macale, A.M. (2015). Reproductive Biology of Christian crabs (*Charybdis feriatus*, Linnaeus, 1758) in San Miguel Bay, Philippines. *Kuroshio Science 9-1*: 13-16.
- Oniam, V., Chuchit, L. and Arkronrat, W. 2012. Reproductive performance and larval quality of blue swimming crab (*Portunus pelagicus*) broodstock, fed with different feeds. *Songklanakarin Journal of Science and Technology 34 (4)*: 381-386.

- Presnell, J.K., and Schreibman, M.P. (1997). *Humason's Animal Tissue Techniques*. 5th ed. US, Johns Hopkins University Press.
- Rasheed, R and Mustaqim, 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, Pakistan. *Fisheries Research* 103: 56–62.
- Ravi, R., Manisseri, M.K., and Sanil, N.K. 2013. Ovarian maturation and oogenesis in the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus* (Decapoda: Portunidae). *Acta Zoology* 94: 291–299.
- Riley, H.G., and Tsukimura, B. (1998). Yolk protein synthesis in rice land tadpole shrimp, *Triops longicaudatus*, measured by in vitro incorporation of H³-leucine. *Journal of Experimental Zoology* 281: 238-247.
- Ryan, E.P. 1967. Structure and function of the reproductive system of the crab *Portunus sanguinolentus* (Herbst) (Brachyura: Portunidae). II. The female system. *Proceedings of the Symposium on Crustacea. Journal of the Marine Biological Association of India* 2: 522-544.
- Sarker, M.M. and Kumar, D. 2013. Ovarian development of freshwater crab *Paratelphusa lamellifrons* (Alcock) (Potamidae: Decapoda). *University Journal of Zoology, Rajshahi University* 32: 1-8.
- Shokita, S., 2004. The role of aquatic animals in mangrove ecosystem. In Vannucci, M. (ed.), *Mangrove management and conservation*, United nation university press, New York,
- Smija, M. K., and Devi, S. (2015). Oocyte Development and Female Reproductive Cycle in the Freshwater Crab *Travancoriana schimerae*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 15. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v15_3_13
- Silva Castiglioni , D., Negreiros-Fransozo, M.L., López Greco, L.S., Silveira, A.F. and Silveira, S.O. 2007. Gonad development in females of fiddler crab *Uca rapax* (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) using macro and microscopic techniques. *Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre* 97(4): 505-510.
- Stewart, M.J., Soonklang, N., Stewart, P., Hanna, P.J., Wanichanon, C., Parratt, A., Duan, W., and Sobhon, P. (2007). Histological studies of the ovaries of two tropical portunid crabs, *Portunus pelagicus* (L.) and *Scylla serrata* (F.). *Invertebrate Reproduction and Development* 50: 85-97.

- 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.
- Sumpton, W.D., Potter, M.A., and Smith, G.S. (1994). Reproduction and growth of the commercial sand crab, *Portunus pelagicus* (L.) in Moreton Bay, Queensland. *Asian Fisheries Science* 7: 103-113.
- Sun, M., Du, X.-L., Liu, J.-Q., Dahms, H.-U., and Wang, L. (2018). Histological analysis of oogenesis and ovarian development of the freshwater crab *Sinopotamon henanense*. *Tissue and Cell* 53: 37-43.
- Suvarna, K.S., Layton, C., & Bancroft, J.D. (2013). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, 7th ed. Canada, Elsevier.
- Takeuchi, T., Nakamoto, Y., Hamasaki, K., Sekiya, S., and Watanabe, T. 1999a. Requirement of n-3 highly unsaturated fatty acids for larval swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 65 (5): 797-803.
- Takeuchi, T., Satoh, N., Sekiya, S., Shimizu, T., and Watanabe, T. 1999b. Influence of the different feeding schedule of food organisms for larval swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 65 (5): 804-809.
- Takeuchi, T., Satoh, N., Sekiya, S., Shimizu, T., and Watanabe, T. 1999c. The effect of dietary EPA and DHA on the molting rate of larval swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 65 (6): 998-1004.
- 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 Journal of Science and Technology*. 37 (6): 609-616.
- Teshima, S. and Kanazawa, A. 1983. Variation in lipid compositions during the ovarian maturation of the prawn. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish* 49: 957-962.
- Thimdee, W., Deekin, G., Sangrungruang, C., and Matsunaga, K. 2004. Analysis of primary food sources and trophic relationships of aquatic animals in a mangrove-fringed estuary, Khung Krabaen Bay (Thailand) using dual stable isotope techniques. *Wetlands Ecology and Management* 12: 135-144.

- Thongtham, N., and Kristensen, E., 2005. Carbon and nitrogen balance of leaf-eating sesarmid crabs (*Neoepisesarma versicolor*) offered different food sources. *Estuarine, coastal and shelf science* 65: 213-222.
- Thongtham, N, Kristensen, E., and Puangprasan, S., 2008. Leaf removal by sesarmid crabs in Bangrong mangrove forest, Phuket, Thailand; with emphasis on the feeding ecology of *Neoepisesarma versicolor*. *Estuarine, coastal and shelf science* 80 (4): 573-580.
- Yang, Y., Lin, D., Bao, C., Huang, H and Ye, H. 2019. Serotonergic Mechanisms of Oocyte Germinal Vesicle Breakdown in the Mud Crab, *Scylla paramamosain*. *Frontiers in Physiology* 10: 1-8.
- Zara, F.J., Gaeta, H.H., Costa, T.M., Toyama, M.H., and Caetano, F.H. 2013. The ovarian cycle histochemistry and its relationship with hepatopancreas weight in the blue crab *Callinectes danae* (Crustacea: Portunidae). *Acta Zoologica* 94: 134-144.

