สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
วิเคราะห์ ชลบุรี 20131

ผลของความเค็มน้ำต่อขบวนการลอกคราบและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรเคมีของปูทะเล (*Scylla serrata*)

Effects of Salinity on Molting Process and Physicochemical Changes in Mud Crab (*Scylla serrata*)

นายบุญรัตน์ ประทุมชาติ * นายพิชาญ สว่างวงศ์ * Mr. Jorge Machado**

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

29 มี.ค. 2548

190645

*ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

**Biomedical Sciences Institute Abel Salazar, University of Porto, Portugal

ผลของความเค็มน้ำต่อขบวนการลอกคราบและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรเคมีของปูทะเล (*Scylla serrata*)

Effects of Salinity on Molting Process and Physicochemical Changes in Mud Crab (*Scylla serrata*)

นายบุญรัตน์ ประทุมชาติ * นายพิชาญ สว่างวงศ์ * Mr. Jorge Machado**

*ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

**Biomedical Sciences Institute Abel Salazar, University of Porto, Portugal

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทคัดย่อ

นำปูทะเล (*Scylla serrata*) ขนาดความกว้างกระดองเฉลี่ย 71 มิลลิเมตร ระยะคราบแข็ง (stage C_3) ปราศจากก้าม เลี้ยงในถังไฟเบอร์ขนาด 250 ลิตร ที่ระดับความเค็มน้ำ 5,10,15,20 และ 25 ppt (และเพิ่ม 30, 35 และ 40 ppt สำหรับการศึกษาออสโมลาลิตี้) เป็นระยะเวลา 75 วัน เพื่อทำการตรวจสอบขบวนการลอกคราบ การรอดตาย และการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีของปูทะเล

จากผลการทดลองพบว่า ความเค็มมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไกลโคสอะมิโนไกลแคน ออสโมลาลิตี้ โซเดียม, คลอรีน โปแตสเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส ทองแดง ซัลเฟอร์ และแคลเซียม ในพลาสมาปูทะเล โดยทั่วไปแล้วพบว่ามีระดับความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นตามความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ยกเว้นฟอสฟอรัส โดยแมกนีเซียม ซัลเฟอร์แมงกานีส ทองแดง และแคลเซียม จะมีค่าลดลงที่ความเค็มน้ำ 25 ppt ซึ่งการเพิ่มขึ้นของธาตุส่วนมากในเลือดตามความเค็มนั้นส่งผลให้ปริมาณธาตุที่พบในเปลือกเพิ่มอีกด้วย ยกเว้นทองแดง

ปูที่เลี้ยงในน้ำความเค็มสูง (20-25 ppt) จึงเป็นความเค็มที่เหมาะสมเพื่อการสนับสนุนกลไกการสร้างเปลือกและเนื้อเยื่อของปูทะเล เห็นได้จากมีจำนวนปูลอกคราบสูงสุด (100±0%) ($P<0.05$) ที่ความเค็มน้ำ 20 ppt ขณะที่ปูที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ppt ใช้ระยะเวลาในการลอกคราบ (36 ± 4 วัน) สั้นกว่าปูที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 25 ppt (47±4 วัน) ($P<0.05$) ซึ่งเป็นการสนับสนุนว่าที่ความเค็มน้ำที่ต่ำมีส่วนช่วยสนับสนุนการละลายเปลือกเก่าในปูชนิดนี้ อย่างไรก็ดี ขนาดปูหลังลอกคราบ และการตายของปูทะเลของการเลี้ยงทุกระดับความเค็มน้ำไม่พบความแตกต่างกัน ($P>0.05$)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ABSTRACT

The clawless intermolt (stage C_3) crabs (*Scylla serrata*) with 70 mm in carapace width were maintained in five salinity levels of 5, 10, 15, 20 and 25 ppt (including 30, 35 and 40 ppt for osmolality study) in 250 L fiberglass for 75 days. Molting process, survival rate and physicochemical changes of experimental crabs were investigated.

Except for phosphorus, the increasing of concentrations of protein, carbohydrate, glycosaminoglycans, osmolality, sodium, chloride, potassium, magnesium, manganese, copper, sulfur and calcium in the plasma of *S. serrata* were significantly affected by an increasing of the external salinity ($P < 0.05$). This phenomenon contributed to the increasing of elements in the cuticle except copper. However, the concentrations of magnesium, sulfur, manganese, copper and calcium significantly decreased ($P < 0.05$) at 25 ppt. For *S. serrata*, biomineralization of cuticle and tissue was supported by the optimal salinity of 20-25 ppt. By the reason, the significant highest ($P < 0.05$) number of peeler crabs found in 20 ppt. While the molting period of crab in 5 ppt medium (36 $\pm$ 4 days) was significantly ($P < 0.05$) shorter than that of 25 ppt (47 $\pm$ 4 days). It suggests that the dissolution process in old cuticle of *S. serrata* should be supported by the lower salinity. However, size increment of peeler crab, % mortality was not significantly different among groups ($P > 0.05$).

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค

บทที่

1. บทนำ..... 1
2. วิธีการทดลอง..... 3
3. เอกสารที่เกี่ยวข้อง..... 7
4. ผลการทดลอง..... 27
5. อภิปรายผลกาทดลอง..... 43

เอกสารอ้างอิง.....59

คำนิยม.....64

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 แสดงระยะเวลาในการลอกคราบ จำนวน ขนาดที่เพิ่มขึ้นของปูที่ลอกคราบ การตายของปูทะเล ที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 5 ระดับ เป็นเวลา 75วัน.....28
2 แสดงระดับความเข้มข้นของพลาสมาโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคนของปูทะเล (*S. serrata*) ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ.....32
3 การเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 8 ระดับ.....35
4 ความเข้มข้นของแร่ธาตุในพลาสมาปูทะเลที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ.....39
5 ความเข้มข้นของแร่ธาตุในเปลือกปูทะเลที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ.....41

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบของปูทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน	29
2	เปอร์เซ็นต์การลอกคราบของปูทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน	29
3	เปอร์เซ็นต์การลอกคราบสะสมของปูทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน	30
4	เปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นของกระดองหลังลอกคราบของปูที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน	30
5	การตายของปูทะเล 3 ลักษณะที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน	31
6	ความเข้มข้นโปรตีนของพลาสมาปูทะเล (*S. serrata*) ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ	33
7	ความเข้มข้นคาร์โบไฮเดรตของพลาสมาปูทะเล (*S. serrata*) ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ	33
8	ระดับไกลโคสอะมิโนไกลแคนในพลาสมาของปูทะเล (*S. serrata*) ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ	34
9	การเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลและน้ำภายนอกภายใต้ความเค็มน้ำ 8 ระดับ	34
10	การเปลี่ยนแปลงค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลภายใต้ความเค็มน้ำ 8 ระดับ	36
11	รูปแบบการปรับสมดุลเกลือแร่แบบ moderate hyper- and hyporegulator ของปูทะเส	36
12	ความเข้มข้นของแร่ธาตุ Na, Ca, K และ Cl ในเลือดปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ	40
13	ความเข้มข้นของแร่ธาตุ Mg และ S ในเลือดปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ	40
14	ความเข้มข้นของแร่ธาตุ Mn, Cu และ P ในเลือดปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ	40
15	ความเข้มข้นของแร่ธาตุ Ca และ Mg ในเปลือกปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ	42
16	ความเข้มข้นของแร่ธาตุ P, Na และ S ในเปลือกปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ	42
17	ความเข้มข้นของแร่ธาตุ K, Mn, Cu และ Cl ในเปลือกปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ	42

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 1
บทนำ

ปูทะเลเป็นทรัพยากรประมงชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศและของท้องถิ่นแถบจังหวัดชายทะเล ปูทะเลเป็นอาหารทะเลที่มีรสชาติดี มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศทำให้ความต้องการปูทะเลมีมากขึ้นอย่างไม่จำกัด สามารถนำมาเพาะเลี้ยงได้ ราคาดี มีผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุนสูง ในช่วง 5 ปี ที่ผ่านมา (2537-2541) ปริมาณปูทะเลที่จับได้นับเป็นมูลค่าหลายร้อยล้านบาท

การนำปูทะเลหลังจากการลอกคราบซึ่งมีลักษณะตัวอ่อนนุ่ม (ปูนิ่ม) มาบริโภคนับเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายในขณะนี้ ทำให้มีผู้สนใจนำปูทะเลมาเลี้ยงเพื่อให้ลอกคราบเป็นปูนิ่มแล้วนำออกจำหน่าย จากการสอบถามภาคเอกชนพบว่ามีความต้องการของตลาดภายในประเทศไม่น้อยกว่า 1 ตันต่อวัน ประกอบกับเป็นสินค้าทางการประมงที่มีศักยภาพสูงเพื่อการส่งออกต่างประเทศ ทั้งนี้เนื่องจากทางกลุ่มประเทศ สหรัฐอเมริกา ยุโรป และญี่ปุ่น มีการบริโภคกันอย่างแพร่หลาย ขณะที่ประเทศเหล่านี้มีขีดจำกัดในการผลิต (Petrocci และ Oesterling, 1991) ประกอบกับพันธุ์ปูชนิดนี้มีข้อได้เปรียบตรงที่มีปริมาณเนื้อและคุณภาพสูงมาก ถึงแม้ว่าการทำปูทะเลให้เป็นปูนิ่มในประเทศไทยนั้นมีการทำกันบางแล้ว อย่างไรก็ดี ยังมีปริมาณการผลิตจำกัด (Teinsonrasmi and Pratoomchat 1999)

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า การเจริญเติบโตของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนนั้นมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับการลอกคราบ ปูทะเลก่อนที่จะลอกคราบเป็นปูนิ่มหรือเพื่อการเจริญเติบโตนั้นจะใช้ระยะเวลานาน เนื่องจากเป็นสัตว์ครัสเตเชียนในกลุ่มที่มีระยะคราบแข็งยาวนาน (anecdysis) จึงส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูงและมีความเสียหายสูงจากพฤติกรรมกินกันเอง (cannibalism) อีกด้วย ทำนองเดียวกันความสำเร็จในการลอกคราบก็ขึ้นอยู่กับการปรับตัวด้านสรีรวิทยา การได้มาของแหล่งอิออนของสารอนินทรีย์ ซึ่งจะมีการเชื่อมโยงใกล้ชิดกับสารประกอบอินทรีย์ระหว่างกระบวนการสร้างเปลือก ดังนั้นความสำเร็จในการเลี้ยงปูทะเลขึ้นอยู่กับความเข้าใจเกี่ยวกับการตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อสิ่งแวดล้อมภายนอก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ความเค็มน้ำ การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในเลือดนับว่าเป็นดัชนีที่มีประโยชน์ การรักษาสมดุลของอิออนระหว่างชั้นเลือดและเปลือกผ่านทางชั้นเอพิเดอมิสมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการสร้างเปลือกตลอดวงจรการลอกคราบ การเจริญเติบโตของสัตว์ในกลุ่มครัสเตรเชียนจะชะงัก หากได้รับแร่ธาตุจากทางอาหารและสิ่งแวดล้อมไม่พอเพียง

ด้วยเหตุที่มีข้อจำกัดด้านการใช้ฮอร์โมนเร่งการลอกคราบ (ecdysone) ในการผสมในอาหารเพื่อเร่งการลอกคราบในสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน (crustacean) รวมทั้งปูทะเล ดังนั้นจึงควรที่จะทำการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลเร่งการการลอกคราบของปูทะเลแทน ระดับความเค็มน้ำซึ่งเกี่ยวเนื่องกับชนิดและ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ปริมาณอนินทรีย์สารในน้ำนับว่ามีอิทธิพลทั้งโดยตรงและอ้อมต่อการลอกคราบของปูทะเล ด้วยเหตุที่มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเรื่องดังกล่าวน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งปูทะเลนั้นมีน้อยมากทั้งพื้นฐานและแนวประยุกต์ในประเทศไทย งานวิจัยนี้จะก่อให้เกิดความเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในทางสรีรเคมีของปูทะเลเมื่อความเค็มน้ำมีการเปลี่ยนแปลงไป นอกจากมุ่งเสริมสร้างความเข้าใจเชิงวิทยาศาสตร์ถึงกลไกการสร้างเปลือกปูทะเล เพื่อเป็นดัชนีที่บอกถึงความสำคัญหรือจำเป็นของระดับความเค็มน้ำที่มีความสัมพันธ์กับแร่ธาตุและสารอาหารเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการลอกคราบ การสร้างเปลือกใหม่และการเจริญเติบโตแล้ว ทิศทางของการวิจัยนี้ยังมุ่งหวังการนำผลการวิจัยไปใช้ได้ทันที เพื่อที่จะแก้ปัญหาตรงจุดและพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีได้ทันทีสู่เกษตรกร เพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับลอกคราบ การเติบโตช้า ลดการเสี่ยงต่อการกินกันเอง ตลอดจนเป็นประโยชน์ด้านองค์ความรู้ใหม่และสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสัตว์เศรษฐกิจในคลาสครัสเตเชียนชนิดอื่น ๆ ต่อไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

1. สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี

2. การเตรียมสัตว์ทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้ได้รวบรวมปูทะเลมาจากแหล่งขายปูทะเลมาจากแหล่งขายปูที่ ตำบลอ่างศิลา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี ขนาดความกว้างของกระดองเฉลี่ย 70 มิลลิเมตร โดยทำการสลบปูทะเลด้วยน้ำเย็นจัดอุณหภูมิประมาณ 4 ^{o}C นำปูเหล่านี้มาตรวจสอบระยะด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตามวิธีการของ Pratoomchat et al. (2002b) *ทำการเลือกปูทะเลระยะคราบแข็ง (Intermolt, C_3) มาใช้ในการทดลองเท่านั้น* จากนั้นทำการวัดความกว้างของกระดองด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง ทำให้ปูทะเลสลัดก้ามโดยการจุ่มก้ามปูทะเลในน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 80 ^{o}C แล้วทำการติดเครื่องหมายด้วยพลาสติกผสมกาวทุกตัวก่อนนำปูทะเลลงเลี้ยงในถัง

3. การเตรียมน้ำทะเล

เตรียมน้ำทะเลมาใส่ลงในถังแล้วปรับความเค็มด้วยน้ำจืดให้ได้ระดับความเค็มน้ำที่ระดับ 5,10,15,20 และ 25 ppt พักไว้ในถังขนาด 1,000 ลิตร ทั้ง 5 ระดับความเค็ม ให้อากาศด้วยหัวทราย

4. ชุดการทดลอง

แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง 3 ซ้ำ ตามระดับความเค็มน้ำ 5 ระดับ (5, 10, 15, 20, 25 ppt) เพื่อทำการเลี้ยงปูทะเลเพื่อตรวจสอบการรอดตาย ระยะเวลาลอกคราบ จำนวนปูทะเลที่ลอกคราบ และทำการสุ่มปู (n) มาเพื่อทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีของเลือดและเปลือก ขณะที่ทำการเพิ่มความเค็มน้ำเป็น 30, 35 และ 40 ppt เพื่อศึกษาค่าออสโมลาลิตี้ของปูทะเล

5. การเลี้ยงและการให้อาหารปูทะเล

ทุกชุดการทดลองทำการเลี้ยงปูทะเลจำนวนถังละประมาณ 10-12 ตัว นำเศษกระเบื้องหลังคาและอิฐบล็อกมาทำเป็นที่หลบซ่อนและขึ้นมาสัมผัสอากาศให้ปูในแต่ละถัง และนำผ้าใบสีดำคลุมปากถังไว้ทุกถัง เพื่อพรางแสงลงประมาณ 50% ให้ปลาข้างเหลืองเป็นอาหารโดยหั่นเป็นชิ้นๆ วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น เปลี่ยนถ่ายน้ำ 100% ทุกวัน เวลาเย็น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ทำการบันทึกจำนวนปูทะเลที่ลอกคราบ ระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบ วัดความกว้างของกระดองใหม่ การตายของปูทะเลคราบแข็ง ขณะกำลังลอกคราบ และหลังการลอกคราบ ระหว่างทำการทดลองของปูทะเลทุกๆวันทั้ง 5 ชุดการทดลอง

6. การเก็บเลือดปูเพื่อวัดออสโมลาลิตี้ (Osmolality)

ใช้เข็มฉีดยา (Tuberculin ขนาด 1.0 ml กับเข็มเบอร์ 27) เจาะเลือดปูจากบริเวณแอ่งเลือดของโคนขาเดินระหว่างก้ามกับขาเดินคู่ที่ 1 ใส่ลงในสไลด์หลุม จากนั้นใช้ไมโครปิเปต 100 μl ดูดเลือดใส่ Eppendroff แล้วนำไปวัดระดับ osmolality ด้วยเครื่อง Freezing point osmometer (Slamed 1000) จะได้ความเข้มข้นของเลือดซึ่งมีหน่วยเป็น mOsm/kg.H_2O ยึดหลักการทำงานที่ว่าสารละลายใดมีปริมาณอนุภาคที่ละลายอยู่ในสารละลายสูงจะมีจุดเยือกแข็งต่ำลง แล้วเครื่องจะทำการแปลค่าออกมาเป็นค่าออสโมลาลิตี้ในหน่วย มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัมน้ำ

7. การเก็บตัวอย่างเลือดปูทะเลเพื่อเตรียมพลาสมา

ทำการคัดเลือกปูระยะคราบแข็ง (stage C2 และ C3) มาทำการดูดเลือดจากปูทะเลโดยใช้เข็มฉีดยา (Tuberculin ขนาด 1.0 ml กับเข็มเบอร์ 27) แทงลงผ่านบริเวณโคนก้ามหนีบ นำเลือดเก็บไว้ใน appendroff โดยผสม 10% tri-sodium citrate สารเพื่อกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) ลงไปด้วยในอัตราส่วน 1:1 (ใช้เลือด 0.7 ml : 10% tri-sodium citrate 0.7 ml) เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –20 ^{o}C

8. การเตรียมพลาสมาของเลือดปู

นำเลือดปูที่ผสม 10% tri-sodium citrate ไปปั่นเพื่อให้ตกตะกอนด้วยเครื่อง microcentrifuge ด้วยแรงเหวี่ยง 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C นาน 15-20 นาที ดูดของเหลวส่วนบน (supernatant) ซึ่งก็คือพลาสมาเก็บไว้ใน appendroff ใหม่เพื่อใช้เป็นตัวอย่างวิเคราะห์หาค่าโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไกลโคสมิโนไกลแคน และแร่ธาตุต่อไป

9. การเก็บตัวอย่างเปลือกปู

หลังจากเก็บเลือดแล้ว จึงทำการแกะเปลือกปูทะเลแต่ละตัวของแต่ละการทดลอง นำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ นำเปลือกที่ล้างแล้วไปอบในตู้อบด้วยอุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเปลือกที่อบแล้วมาชั่งรอบแรก บันทึกน้ำหนัก แล้วนำไปชั่งต่ออีก 2 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักแห้งคงที่ นำเปลือกกุ้งแต่ละตัวที่อบแห้ง (ในแต่ระยะลอกคราบ) แล้วมาบดในโกร่งบด (ceramic mortar)ให้ละเอียด แล้วนำไปบดผ่านผ้ากรองขนาด 150 μm. แล้วนำไปชั่งให้ได้ 1 กรัม เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุด้วยเครื่อง X- ray fluorescent spectrophotometer ED^{2000} ต่อไป โดยเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (Deccicator)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

10 การวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสมิโนไกลแคน

10.1 โปรตีน

การวิเคราะห์โปรตีนได้ดัดแปลงจากวิธีของ Lowry (Lowry *et. al.,* 1951) โดยใช้ Bovine serum albumin เป็น standard

เตรียมตัวอย่าง (3 ซ้ำ) โดยใช้พลาสมาของเลือดปู 35 μl. เติมน้ำกลั่น 8,965 μl (เป็นการ dilute พลาสมา 250 เท่า) แล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 2 ml. เตรียม blank (เตรียมเช่นเดียวกับตัวอย่าง) แต่ใช้น้ำกลั่น(ผสม tri-sodium citrate) แทนพลาสมาของเลือดปู ในแต่ละหลอด **เติมสารละลาย C*** 4.0 ml หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที เติม Folin Reagent 0.4 ml. แล้วเขย่าทันที (ด้วย Vortex Mixer) เก็บหลอดทดลองไว้ในที่มืดนาน 30 นาที จึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Visible light spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 nm.

สารละลาย C

(1) สารละลาย A ; 2% Na_2CO_3 ในน้ำกลั่น

(2) สารละลาย B ; 0.5% $CuSO_4.5H_2O$ ใน 1% sodium tatrate

(3) สารละลาย C ; สารละลาย A 50 ปริมาตร ต่อ สารละลาย B 1 ปริมาตร

10.2 คาร์โบไฮเดรต

การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตดัดแปลงจากวิธีของ Dubois (Dubois *et. al.,*1965) โดยใช้กลูโคสเป็น standard เตรียมตัวอย่าง 3 ซ้ำ โดยใช้พลาสมาของเลือดปูทะเล 360 μl. เติมน้ำกลั่น 8,640 μl. (เป็นการ dilute พลาสมา 25 เท่า) แล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 2 ml เตรียม blank (เตรียมเช่นเดียวกับตัวอย่าง) แต่ใช้น้ำกลั่น (ผสม tri-sodium citrate) ในแต่ละหลอดเติมสารละลาย phenol 50 μl หลังจากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5.0 ml (เนื่องจากปฏิกริยาจะเกิดรุนแรงจึงค่อยๆ หยดลงที่ผิวหน้าของของเหลว) เขย่าหลอดทันทีโดยใช้ Vortex Mixer แล้วพักทิ้งไว้นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าหลอดอีกครั้งโดยใช้ Vortex Mixer แล้วพักทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที หรือ มากกว่านั้นจนกว่า สีจะคงที่ นำสารละลายที่ได้ไปทำการวัดด้วยเครื่อง Visible light spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 nm.

10.3 ไกลโคสอะมิโนไกลแคน

การวิเคราะห์ความเข้มข้นไกลโคสอะมิโนไกลแคน ได้ดัดแปลงจากวิธีการของ Whiteman (1973) โดยใช้ chondroitin sulfate เป็น standard

เตรียมตัวอย่าง (3 ซ้ำ) โดยใช้พลาสมาปู 10 μl เติมน้ำกลั่น 600 μl (เจือจาง 61 เท่า) แล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 200 μl เตรียม Blank (เตรียมเช่นเดียวกับตัวอย่าง) แต่ใช้น้ำกลั่น (ผสม tri-sodium citrate) **เติม precipitating solution*** 4 ml ลงในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5000 g เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ตกตะกอนรวมกันที่ก้นหลอด แล้วเทส่วน supernatant ทิ้ง แล้วคว่ำหลอดบนกระดาษซับ เติม ethanol 8 ml เขย่าทันที เพื่อให้ตะกอนละลาย โดยใช้ Vortex Mixer นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งด้วยความเร็ว 5000 g นาน 15 นาที เท

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่วน supernatant ทิ้ง แล้วคว่ำหลอดบนกระดาษซับ เติม SDS solution 4 ml ลงไป เขย่าหลอดทันที เพื่อให้ตะกอนละลาย โดยใช้ Vortex Mixer ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลายที่ได้ไปทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 678 nm ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible GBC Instrument – 3127)

Precipitating solution*

ผสม 0.5 M โซเดียมอะซีเตต (pH=5.8) 10 ml 2 M แมกนีเซียมคลอไรด์ 5 ml, และ 1% alcian blue 8GX-300 5 ml ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 100 ml ปิดจุกแล้วเขย่า ต้องเตรียมในวันที่ทำการทดลอง

11. การวัดปริมาณแร่ธาตุ

สำหรับพลาสมาปู ใช้ autopipette ขนาด 1,000 ไมโครลิตร ขณะที่เปลือกชั่งให้ได้ 1 กรัม นำมาใส่ cup โดยด้านล่างหุ้มด้วย prolene film แล้วนำไปวัดปริมาณของธาตุโซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส กำมะถัน ทองแดง และแมงกานีส ด้วยเครื่อง X-ray fluorescent spectrophotometer ED^{2000} ตามวิธีการของ Pratoomchat et al. (2002a) จะได้ปริมาณของแร่ธาตุต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นมีหน่วยเป็น mg/l แล้วนำมาคำนวณเปลี่ยนให้เป็นหน่วย mmol/l

12. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลจำนวนปูทะเลที่ลอกคราบและระยะเวลาที่ลอกคราบ การตายในสภาพต่าง ๆ ความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตที่ได้ในเลือด ธาตุโซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส กำมะถัน ทองแดง และแมงกานีส ในเลือดและเปลือก ของปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่าง ๆ มาวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of variance) และนำมาหาค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้วิธี Waller Duncan New' Multiple Rang Test ด้วย โปรแกรม SPSS

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 3
เอกสารที่เกี่ยวข้อง

1. โครงสร้างเปลือกปู

เนื่องจากเปลือกปูทะเลมีองค์ประกอบเป็นสารอนินทรีย์อยู่ถึง 55% โดยมีแคลเซียมและแมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบหลัก ขณะที่มีองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์อยู่ 45% โดยมีไคติน (chitin) เป็นองค์ประกอบหลัก (Pratoomchat et al., 2002a) มีการประสานกันอย่างดีต่อการสร้างเปลือก เมื่อเจริญเติบโตจะมีการสร้างกระดองใหม่ขึ้นมาภายใต้กระดองเก่าและทำการลอกคราบเอากระดองเก่าทิ้งไป ลักษณะโครงสร้างของกระดองปูหรือเปลือกที่หุ้มร่ายกายสัตว์ครัสตาเชีย (crustacea) Camaron (1985) จำแนกลักษณะโครงสร้างของกระดองปูออกเป็นชั้นๆ ดังนี้ คือ

Epicuticle เป็นชั้นที่อยู่นอกสุด ประกอบด้วยสารพวก lipoprotein ซึ่งสร้างมาจาก tegumental gland ที่อยู่ในชั้น epidermis ในชั้นนี้จะไม่พบไคตินเป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่ในการป้องกันการซึมผ่านเข้าออกของน้ำ

Procuticle เป็นเปลือกที่อยู่ถัดมาจากชั้น epidermis ประกอบด้วย 2 ชั้น คือ

Exocuticle เป็นชั้นที่มีการสะสมของ malanin pigment ทำให้เรียกชั้นนี้ว่า pigmented layer จะเป็นจุดกำเนิดของสีต่างๆ ชั้นนี้มีไคตินเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 40-45% และมีการสะสมเกลือแคลเซียมด้วย

Endocuticle มีไคตินเป็นองค์ประกอบประมาณ 70% แบ่งออกเป็น 2 ชั้นย่อยคือ

- *calcified layer* เป็นชั้นที่มีการสะสมเกลือแคลเซียม มีพื้นที่กว้างกว่าชั้นอื่นๆ
- *uncalcified layer* หรือ *membranous layer* เป็นชั้นที่อยู่ในสุดของเปลือกโดยเชื่อมอยู่ระหว่างเปลือกกับ epidermis ไม่มีการสะสมเกลือแคลเซียม

Epidermis เป็นผิวหนังที่อยู่นอกสุดที่อยู่ติดกับเปลือก ชั้นเซลล์มีขนาดใหญ่ ประกอบด้วยเซลล์ที่มีลักษณะสี่เหลี่ยมทรงสูงอัดแน่น มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue), grand cell, pigment และปลายประสาท ทำหน้าที่ขับสารออกไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเปลือก

2. การลอกคราบของปูทะเล

การลอกคราบนอกจากจะเป็นการเพิ่มขนาดแล้ว ยังเป็นการเปลี่ยนแปลงลักษณะด้วย ระยะเวลาในการลอกคราบครั้งหนึ่งๆ จะห่างกันเท่าใดนั้นขึ้นกับขนาด อายุ และความสมบูรณ์ของปูทะเล นอกจากนี้ยังขึ้นกับสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมด้วย ปูทะเลขนาดโตเต็มวัยจะลอกคราบครั้งหนึ่งๆ ห่างกันประมาณ 45 วัน วงจรการลอกคราบของปูทะเล *S. serrata* โดยทั่วไปแบ่งได้เป็น 5 ระยะใหญ่คือ ระยะ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หลังการลอกคราบตอนต้น หรือ ระยะ A (Early postmolt) ระยะหลังลอกคราบ หรือ ระยะ B (postmolt) ระยะคราบแข็ง หรือ ระยะ C (Intermolt) ระยะก่อนลอกคราบ หรือ ระยะ D (Premolt) และระยะลอกคราบ หรือ ระยะ E (Ecdysis) ระยะการลอกคราบที่มีการจำแนกไว้นี้ยังสามารถแบ่งย่อยได้อีกเป็น 9 ระยะคือ ระยะ A, B, C_1, C_2, C_3, D_1, D_2, D_3 และ E (Pratoomchat *et al.*, 2002b) โดยมีปรากฏการณ์ดังนี้

ระยะหลังลอกคราบใหม่ ๆ (Early postmolt) ระยะนี้เป็นระยะที่ปูทะเลเพิ่งลอกคราบเสร็จ คราบใหม่มีลักษณะเป็นหนังเหนียวๆลื่นๆและมีความอ่อนนุ่ม ส่วนภายในและบริเวณฐานขนของรยางค์จะมีของเหลวสีน้ำตาลบรรจุอยู่ ระยะนี้ปูจะเริ่มสะสมแคลเซียมและดูดน้ำเข้าตัว และปูจะไม่เคลื่อนที่ ไม่หาอาหาร ระยะนี้จะคงที่ภายใน 24-36 ชั่วโมง

ระยะหลังลอกคราบ (Post molt) ระยะนี้คราบเริ่มแข็งขึ้น เอนโดคิวติเคิล (endocuticle)เริ่มมีการพัฒนาระหว่างเคลือบผิวชั้นนอกอันเดิมและเคลือบผิวชั้นนอกอันใหม่ และสังเกตเห็นเม็ดสีมีการถอยกลับ ระยะนี้ใช้เวลา 8-10 วัน

ระยะคราบแข็ง (Intermolt) ระยะนี้คราบมีความแข็งเต็มที่ และพบว่าเม็ดสีมีการถอยกลับไปอยู่บริเวณฐานปลายสุดของขน (setae) ชั้นเคลือบผิวอันใหม่เริ่มปรากฏให้เห็นขนเล็กๆ ผิวชั้นนอกมีการหดกลับ ระยะนี้ปูจะมีการสะสมสารต่างๆและผิวชั้นนอกจะเริ่มแข็งขึ้นเรื่อยๆ ใช้เวลาทั้งหมด 24-30 วัน ปูในระยะนี้จะเคลื่อนที่มาก มีพฤติกรรมก้าวร้าว และออกหาอาหาร

ระยะก่อนลอกคราบตอนต้น (Early premolt) ระยะนี้ผิวชั้นนอกจะหดกลับจนเห็นได้ชัดเป็นแนว ใช้เวลา 7-10 วัน

ระยะระยะก่อนลอกคราบตอนกลาง (Mid-premolt) ระยะนี้ผิวชั้นนอกปรากฏเห็นเป็นแนวชัดขึ้นและใหญ่ขึ้น สังเกตเห็นขนมีลักษณะเป็นก้าน ใช้เวลา 7-10 วัน

ระยะระยะก่อนลอกคราบตอนปลาย (Late premolt) ขนใหม่พัฒนาสมบูรณ์ ชั้นผิวนอกหดกลับโดยสมบูรณ์ กระดองแข็งมากแต่มีความเปราะและแตกง่าย ปูจะกินอาหารน้อยลง เตรียมพร้อมที่จะลอกคราบ ใช้เวลา 5-7 วัน

ระยะระหว่างลอกคราบ (Ecdysis) เป็นระยะที่ปูทะเลมีการลอกคราบและเป็นช่วงที่ปูมีความอ่อนแอมากที่สุด ในระยะนี้น้ำจะเข้าตัวอย่างรวดเร็วทางรอยแตกทุกที่มีการปรับความดันออสโมติกในเลือด เนื่องจากทั้งโปรตีนในเลือดและไขมันในเลือดเพิ่มขึ้นก่อนการลอกคราบทำให้ความดันเลือดสูงขึ้น จึงต้องมีการดูดซึมน้ำผ่านทางเดินอาหาร การลอกคราบของปูทะเลแต่ละครั้งจะทำให้ปูทะเลมีขนาดกระดองใหญ่ขึ้น 10-20 มิลลิเมตร หากพิจารณาจากปูขนาดความกว้างกระดองประมาณ 5 เซนติเมตรขึ้นไป

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการลอกคราบและการเจริญเติบโต

การเจริญเติบโตของปูทะเลจะเกิดขึ้นได้ต้องมีการลอกคราบ โดยจะมีการเพิ่มขนาดตัวก่อนและตามด้วยการเพิ่มน้ำหนัก การเจริญเติบโตและการลอกคราบจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ การทำงานของระบบประสาทที่ควบคุมการลอกคราบ โดยถูกควบคุมโดยระบบประสาทส่วนกลางและระบบต่อมไร้ท่อ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ระบบประสาทส่วนกลางจะมี X-organ sinus gland complex จะหลั่งฮอร์โมนยับยั้งการลอกคราบ (molt-inhibiting hormone) จาก neurosecretory cell บริเวณ medulla terminalis ส่งผ่านไปเก็บสะสมที่ sinus gland บริเวณกลางก้านตาโดย neurosecretary tract ในรูปของเม็ดเล็ก ๆ (granule) จากนั้นจะถูกปล่อยเข้าสู่กระแสเลือด ระยะนี้สัตว์จะไม่มีการลอกคราบจนกระทั่งมีปัจจัยต่าง ๆ มากระตุ้นให้เกิดการลอกคราบ ได้แก่ ปัจจัยภายนอกซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการลอกคราบเช่น ความเค็ม แสง อุณหภูมิ และอาหาร เป็นต้น ส่วนปัจจัยภายใน เช่น การสะสมสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ไว้จนเพียงพอ ระบบประสาทส่วนกลางจึงเริ่มสั่งการให้มีขบวนการลอกคราบเกิดขึ้น ฮอร์โมนยับยั้งการลอกคราบในกระแสเลือดจะเริ่มลดลงและส่งผลให้ต่อมไร้ท่ออีกชนิดหนึ่งคือ Y-organ จะหลั่งฮอร์โมนลอกคราบ (molting hormone หรือ ecdysone) ซึ่งควบคุมขบวนการทางสรีรวิทยาต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการลอกคราบ เช่น กระบวนการ apolysis ซึ่งเป็นกระบวนการที่เนื้อเยื่อชั้น epidermis หดตัวจากเปลือกเก่าเพื่อที่จะสร้างเปลือกใหม่ การสร้างขนใหม่ (setagenesis) กลไกการดูดซึมเอาสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์จากเปลือกเก่ามาเก็บสะสมไว้ที่ gastrolith หรือ hepatopancreas เพื่อเตรียมสร้างเปลือกใหม่ เมื่อมีการสร้างเปลือกใหม่ สัตว์กลุ่ม ครัสตาเชียนจะเริ่มอดอาหารและเนื้อเยื่อที่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงที่อดอาหารคือ บริเวณเปลือก ตับ (hepatopancreas) และเลือด เมื่อทุกอย่างเข้าสู่ระยะใกล้ลอกคราบซึ่งเป็นระยะที่มีการกระตุ้นระบบต่าง ๆ เริ่มต้นจากแรงดันออสโมติค (osmotic pressure) ในเลือดจะสูงขึ้น เปลือกจะเริ่มปริออก น้ำจะเริ่มเข้าสู่ทางเดินอาหารและแพร่เข้าสู่เลือดโดย hydrostatic pressure ทำให้สัตว์มีปริมาตรเพิ่มขึ้นสามารถที่จะสลัดเปลือกเก่าหลุดออกไป เมื่อสลัดคราบหลุดแล้วรยางค์ส่วนต่าง ๆ จะเริ่มแข็งแต่การดูดน้ำเข้าสู่ตัวยังคงมีอยู่จนถึงระยะหลังลอกคราบ จากนั้นจึงมีการดึงเอาแคลเซียมมาใช้สร้างเปลือกให้แข็ง และเนื้อเยื่อมีการเจริญตามขนาดที่เปลี่ยนแปลงไปและน้ำหนักของปูจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ (Passano, 1960)

การลอกคราบของสัตว์จำพวกครัสตาเชียน เริ่มต้นจากการกระตุ้นซึ่งมีอิทธิพลมาจากระบบประสาทส่วนกลางให้เข้าสู่ระยะก่อนการลอกคราบ (premolt stage) ตามด้วยการเปลี่ยนแปลงปริมาณและคุณภาพของฮอร์โมน จึงก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเพื่อตอบสนองการกระทำของฮอร์โมน ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการลอกคราบ ได้แก่

3.1 ปัจจัยภายนอก

3.1.1ความเค็ม ปกติความเค็มมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อการลอกคราบสำหรับสัตว์ที่อาศัยอยู่บริเวณน้ำกร่อย (Passano, 1960) ประชากรของปูที่อาศัยอยู่บริเวณน้ำกร่อยจะโตเร็วกว่าประชากรที่อาศัยอยู่ในน้ำทะเลมีความเค็มปกติ (Waterman, 1960) นอกจากนี้ความเค็มเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อปูทะเลคือมีผลต่อการเจริญเติบโตซึ่งพบว่าลูกปูในระยะโซเอีย (zoea stage) มีอัตราการรอดตายสูง เมื่อระดับความเค็มน้ำไม่ต่ำกว่า 17.5 ppt ลูกปูในระยะเมกาโลปา (megalopa stage) จะใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 11-12 วัน ในน้ำที่มีความเค็ม 29-34 ppt แต่หากความเค็ม 21-27 ppt ลูกปูในระยะนี้จะใช้เวลาในการเจริญเติบโตเหลือเพียง 7-8 วัน และลูกปูที่มีการลอกคราบเข้าสู่ระยะที่เป็นตัวปู จะสามารถเจริญเติบโตในน้ำทะเลที่มีความเค็มระหว่าง 21-22 ppt ดีกว่าน้ำที่มีความเค็มในช่วง 25-26 และ 30-31 ppt นอกจากนั้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สำหรับน้ำทะเลที่มีความเค็มต่ำ ปูจะไม่สามารถอยู่อาศัยได้ดีนัก เช่นในความเค็มลดลงเหลือ 2 ppt มีผลทำให้ปูไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้นาน เนื่องจากขบวนการควบคุมเกลือแร่ (osmoregulation) และแรงดันออสโมซิส (osmotic pressure) ภายในร่างกาย ไม่สามารถทนทานกับสภาพแวดล้อมของน้ำที่มีความเค็มที่ต่ำมาก ๆ ได้เป็นเวลานาน (ชลธี, 2539) ในระดับความเค็มของน้ำที่ 0 ppt จะทำให้ปูทะเลตายเกิน 50% ภายใน 24 ชั่วโมง (ชาติ และ ยอดชาย, 2522) เห็นได้จากช่วงเวลาที่มีฝนตกหนักจะทำให้ปูตายเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างฉับพลัน (Petrocci และ Oesterling, 1991)

3.1.2 ความเข้มแสงและช่วงของแสง มีอิทธิพลต่อการลอกคราบพบว่าถ้ามีแสงสว่างติดต่อกันคงที่ที่ความเข้มแสง จะหยุดการลอกคราบของสัตว์จำพวกครัสตาเชียน เป็นเวลานานหลายเดือน ถ้าครัสเตเชียอยู่ในระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) อยู่ในที่มืด เมื่อได้รับแสงสว่างทันทีทันใดติดต่อกัน ขบวนการการลอกคราบจะหยุดชะงักไป หรือถ้าอยู่ในที่มืดตลอดเวลาจะไม่ลอกคราบเช่นกัน เช่น ถ้าได้รับแสง 10 ลักซ์ (Lux) เป็นเวลานานจะทำให้ปูใช้ระยะเวลาการลอกคราบนานหลายเดือนถึงแม้ว่าจะเลี้ยงเป็นอย่างดี นอกจากนี้เมื่อนำปูที่อยู่ในระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) อยู่ในสภาพมืด มาให้ได้รับทันที ปูจะชะงักการลอกคราบ ขณะที่พวก *Orconectes.* จะไม่ลอกคราบถ้าอยู่ในที่มืดสม่ำเสมอ แต่ถ้าในฤดูที่มีช่วงแสงในเวลากลางวันนานกว่าปกติจะเพิ่มกิจกรรมการลอกคราบบ่อยขึ้น (Waterman, 1960) และระบบแสงที่ผิดปกติไปจากธรรมชาติมีผลยับยั้งต่อการเจริญเติบโตและลอกคราบ ในระยะซูเอีย โพสลาวา และระยะวัยรุ่นในกุ้ง *Palaemon elegans.* (Dalley, 1980)

3.1.3 อุณหภูมิ อุณหภูมิน้ำมีผลต่อการลอกคราบของปูทะเล โดยถ้าอุณหภูมิน้ำสูงขึ้น ก้านตาจะมีบทบาทจำกัดหรือเป็นตัวเร่งให้มีการลอกคราบหรือขยายเวลาการลอกคราบแต่ละครั้งออกไป ซึ่งหมายถึงกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ภายในร่างกายจะถูกเร่งให้เพิ่มขึ้นด้วย (Passano, 1960) เมื่ออุณหภูมิน้ำต่ำกว่า20 องศาเซลเซียส จะทำให้กิจกรรมต่างๆ ของปูทะเลโดยเฉพาะอย่างยิ่งการกินอาหารจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งมีผลโดยตรงต่ออัตราการเจริญเติบโต (ชลธี, 2539)

3.1.4 ความเป็นกรดและด่าง เนื่องจากภายในร่างกายสัตว์ครัสตาเชียนโดยทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเลือดจะมีการเปลี่ยนแปลงของ pH โดยจะเปลี่ยนไปตามวงจรการลอกคราบ ซึ่งการเปลี่ยนแปลง pH ในเลือดนั้นจะมีผลต่อของเหลวภายในเซลล์ (intracellular fluid) ของเหลวภายนอกเซลล์ (extracellular fluid) และ respiratory protein (ฮีโมไซยานิน) การเปลี่ยนแปลงต่อของเหลวภายในเซลจะมีผลต่อการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งหมายถึงว่า การเปลี่ยนแปลงของระดับ pH หรือควบคุมระดับ pH ในสัตว์พวกครัสตาเชียนจะมีผลต่อสรีรวิทยาและชีวเคมี (Riggs, 1988; Mangum, 1976, 1983 อ้างโดย Henry และ Wheatly, 1992) ซึ่งกลไกในการควบคุม pH ในของเหลวภายในเซลล์มีอยู่ด้วยกัน 3 รูปแบบ คือ การปรับสภาพโปรตอนด้วย inorganic buffer และ/หรือ organic buffer ทำการกำจัดหรือสร้างโปรตอนโดยการควบคุม P_{CO2} ผ่านทางกระบวนการหายใจ การเคลื่อนย้ายระหว่างเลือดกับสิ่งแวดล้อมภายนอกหรือ (Hills, 1973; Davenport, 1974; Heisler, 1986; Cameron, 1989a อ้างโดย Henry และ Wheatly, 1992) Inorganic ion ที่สำคัญคือ Na^+ และ Cl^- ซึ่งมีความสำคัญต่อสมมูลไอออน (equivalent) ระหว่างของเหลว

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภายในเซลล์และสิ่งแวดล้อมหรือ ของเหลวภายนอกเซลล์ โดยไอออนทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีความสัมพันธ์กับการเคลื่อนย้าย HCO_3^- และ H^+ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ ไม่ขึ้นกับ pH ของเหลวภายในเซลล์ เพียงอย่างเดียว กลไกการควบคุม pH ของเหลวภายในเซลล์ ขึ้นอยู่กับ (1) ปริมาณของ nonbicabonate buffer คือ โปรตีนและฟอสเฟต ซึ่งสารประกอบทั้ง 2 ชนิดนี้มีมากภายในเซลล์ (2) ขึ้นอยู่กับการผลิต และ/หรือการใช้ acidic/basic metabolite ผ่านทาง metabolic pathway (3) การสมมูลหรือการส่งผ่านกรดหรือด่างผ่านเซลล์เมมเบรน (equivalent) (Mantel และ Farmer, 1983; Truchot, 1983; Walsh และ Milligan, 1989 อ้างโดย Henry และWheatly, 1992) เป็นที่ทราบกันอย่างแน่ชัดว่า สิ่งแวดล้อมมีผลโดยตรงและโดยอ้อมต่อการควบคุม pH ในร่างกายสัตว์ และ pH ที่มีการเปลี่ยนแปลงจะมีผลต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ในกลุ่มครัสตาเชียน เช่นเดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องการลอกคราบ เนื่องจากสัตว์ในกลุ่มนี้ต้องมีการลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโต สิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง pH ภายในเลือดนั้นได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจน การสัมผัสอากาศ กิจกรรม รวมทั้งการเปลี่ยนแปลง pH ภายนอกโดยตรง (Henry และ Wheatly, 1992)

3.2 ปัจจัยภายใน

การเริ่มต้นการลอกคราบขึ้นอยู่กับการสะสมของสารอินทรีย์ที่เพียงพอแล้วจึงส่งข้อมูลให้ระบบประสาทส่วนกลางเริ่มทำงาน การอดอาหารหรือหยุดกินจะชะลอการลอกคราบที่ถูกควบคุมโดยระบบนี้ รวมไปถึงการสั่งการเมื่อเกิดความจำเป็นเมื่อใช้อินทรียวัตถุที่สำรองไว้เพื่อประโยชน์ด้านอื่น เช่น การพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในฤดูผสมพันธุ์ สัตว์จำพวกครัสตาเชียนที่มีไข่ติดท้องจะหยุดการลอกคราบในทางตรงกันข้ามการสูญเสียรยางค์ส่วนต่าง ๆ จะกระตุ้นให้มีการอลกคราบเร็วขึ้นแม้สภาพแวดล้อมจะไม่เอื้ออำนวยก็ตาม รวมไปถึงการตัดก้านตาก็จะมีส่วนเร่งให้มีการลอกคราบเช่นกัน (Passano, 1960) อย่างไรก็ตามพบว่าการตัดก้านตาไม่มีผลเร่งการลอกคราบในปูทะเล (Daroonchoo, 1986)

Hormone gland เชื่อกันมานานแล้วว่าพวกสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังมีฮอร์โมนควบคุมการทำงาน และถ้ากำจัดก้านตาออกทั้ง 2 ข้างจะทำให้สัตว์โตก่อนกำหนด koller และ Perkin เป็นผู้ค้น พบฮอร์โมนที่มีชื่อว่า chromatophorotrophic จากก้านตาของพวกนาแทนเทีย (Natantia) อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการลอกคราบมีหน้าที่และตำแหน่งที่สร้างฮอร์โมนมีดังนี้ (Waterman, 1960)

Y-organ รูปร่างลักษณะของ Y-organ เป็นท่อที่มีรูปร่างแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์ในครัสเตเชีย Y-organ อยู่ด้านล่างของ mandibular external adductor muscle เหนือจุดต่อของ branchiostegite ในส่วนหน้าของช่วงเหงือก หน้าที่คือเป็นท่อสำหรับสร้างฮอร์โมน (Skinner, 1985) ถ้ากำจัด Y-organ ทั้ง 2 ข้าง จะหยุดหรือยับยั้งการลอกคราบในระยะ C_4 แม้ว่า Y-organ จะมีการกระตุ้นให้เริ่มระยะโพรเอคไดซิส ได้มีการทดลองโดยเอา Y-organ 3-4 คู่ลงไปที่ปูในระยะ C_4 และเอา Y-organ ออก แล้วปล่อยให้ขั้นตอนการลอกคราบดำเนินไปจนถึงระยะคราบแข็งของปู *Sesarma* ฝังต่อมนี้ลงไป 1 คู่ ก็เพียงพอที่จะกระตุ้นให้มีการลอกคราบได้ ส่วนปู *Maja* นั้นพบว่า Y-organ จะฝ่อลีบในวัยเจริญพันธุ์ และมีความสัมพันธ์กับการลอกคราบครั้งสุดท้ายในชีวิต คือนับจากเริ่มลอกคราบมาระยะ C_4+ (teminal stage หรือ permanant

anecdysis) X organ, Y organ จะมีขนาดเล็กลงแต่ประสิทธิภาพการทำงานเท่าเดิม การเอา Y-organ ออกเป็นการเร่งให้สัตว์ถึงระยะลอกคราบครั้งสุดท้ายเร็วขึ้น (Waterman, 1960)

X - organ รูปร่าง X organ เป็นนิวโรสรีโทรีเซลล์ (neurosecretory cell) รวมกันเป็นกลุ่มอยู่ที่ก้านตาบริเวณมุมด้านล่างของ medulla terminalis ganglion ใต้แผ่นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue sheath) มี 2-3 แบบ เรียกว่า Medulla terminalis ganglionic X organ (MTGX) ganglionic X organ ที่เป็นคู่หรืออันเดียว axon ของเซลล์เหล่านี้เปลี่ยนไปเป็นไฟเบอร์ แทรกผ่านไปที่ส่วนของ ganglionic X organ แล้วมารวมกันขยายใหญ่ขึ้นทางตอนปลาย (Waterman, 1960) ที่บริเวณก้านตานี้ยังมี sinus gland ซึ่งไม่มีหน้าที่ในการสร้างฮอร์โมนที่ยับยั้งการลอกคราบแต่น่าจะเป็นตัวเสริมให้ MTGX (mandible terminal ganglionic X organ) หลั่งสารอย่างใดอย่างหนึ่ง (Waterman, 1960) หน้าที่ของ X-Organ มีหน้าที่หลั่งฮอร์โมน ยับยั้งการลอกคราบ (molt inhibition hormone, MIH) ซึ่งอยู่ในบริเวณก้านตา เมื่อนำปู *Uca pugilator* ตัดก้านตัวพบว่าจะทำให้ลอกคราบเร็วขึ้น (Skinner, 1985) แต่เมื่อนำก้านตาปูทะเล ออกภายหลังการลอกคราบจะมี การเกิดใหม่ (regenerate) ขึ้นมาใหม่ แต่ไม่มีตาดำ และจากการตัดก้านตาปูทะเลตัวเมียไข่แก่เต็มกระดอง ภายหลังการตัดก้านตา 8 วัน ปูปล่อยไข่ออกมานอกบริเวณจับปิ้ง (ชาติ และยอดชาย, 2522) ถ้านำ X-Organ ออกจากปูในระยะก่อนลอกคราบ (C_4) แต่ยังคงเหลือ sinus gland ไว้ภายหลังการลอกคราบ sinus gland จะมีขนาดเล็กลงและเปลี่ยนสีเป็นสีฟ้าขาวจางลง ถ้ากำจัดทั้ง X - Organ และ sinus gland ออกทั้งคู่ การลอกคราบจะเกิดขึ้นได้อีกครั้ง ถ้าฝัง X-Organ และ sinus gland ลงไปลงไปที่ก้านตาปูที่ลอกคราบใหม่จะทำให้การลอกคราบครั้งต่อไปช้าลงเป็นเวลา 3-4 เดือน ถ้าฝังเฉพาะไซนัสแกลนด์อย่างเดียวการลอกคราบจะช้าลงเพียง 2-3 สัปดาห์ ถ้าฝัง X-Organ จะให้ผลในการลอกคราบได้ดีกว่า

Extra-eyestalk nervous tissue

Supraesophaeal ganglion เป็น ต่อมไร้ท่อมีเซลล์ประสาท ทำหน้าที่ในการสะสมอาหารสำหรับก้านตาและการสร้างแกสโทรลิท (Gastrolith) ถ้าใช้น้ำยา อะซิโตนดราย ไวโอพิไลซ์สกัด supraesophaeal ganglion และ thoracic ganglia จะช่วยให้กุ้ง *Lysmata* เข้าสู่ระยะก่อนลอกคราบเร็วขึ้น และสัตว์สามารถชีวิตได้อีกหลายเดือน มีการลอกคราบได้อีก 2-3 ครั้ง (Waterman , 1960)

Thoracic ganglia ช่วยเร่งให้ไข่สุก และทำหน้าที่ยับยั้งการลอกคราบ (Waterman , 1960)

Sensory papilla X-organ (SPX) แบ่งได้ 3 ส่วน ส่วนแรกเป็น Sensory neurons เป็นเซลล์ประสาทอยู่ใต้ชั้นเอพิเดอมิส และปลายสุดที่เมดูลาเทอร์มินาลิส ยังไม่ทราบหน้าที่ชัดเจน ส่วนที่สอง เป็นเนื้อเยื่อที่ร่วมกันแน่นเป็น Syncytial และส่วนที่สาม ทำหน้าที่รวบรวมสารหรือทำหน้าที่สลายสารที่สร้างขึ้นสลับกับไซนัสแกลนด์ สารกระตุ้นหรือเร่งการลอกคราบอาจเกิดจาก SPX และ MTGX มีผลต่อที่การลอกคราบเพิ่มขึ้น (Waterman , 1960)

การสูญเสียรยางค์ สัตว์พวกครัสตาเซียมีคุณสมบัติพิเศษอย่างหนึ่ง คือ สามารถปล่อยรยางค์ออกเป็นขาหรือก้าม เมื่อต้องการเอาชีวิตรอดเรียกว่า autotomy โดยปล่อยรยางค์ตรงบริเวณ breaking point และ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จะงอกใหม่ออกมาทดแทนส่วนที่หลุดหายไปในภายหลังเรียกว่า regeneration รยางค์ที่งอกใหม่จะเกิดภายใน 2-3 สัปดาห์ โดยมีเยื่อบาง ๆ หุ้มอยู่ เมื่อโตเต็มที่จะมีเปลือกแข็ง รยางค์ที่งอกมาแทนของเก่าจะมีขนาดเล็กกว่าของเดิม การสูญเสียรยางค์จะเหนี่ยวนำให้เกิดการงอกใหม่ (autotomy) และการลอกคราบจะเกิดขึ้นแม้สภาพแวดล้อมภายนอกไม่เหมาะสมก็ตาม (Waterman, 1960) การสูญเสียรยางค์การงอกใหม่ และการกระตุ้นให้มีการลอกคราบเร็ว ขึ้นอยู่กับรยางค์ และจำนวนที่สูญเสีย ส่วนในปูทะเลนั้น การสูญเสียรยางค์ทำให้มีการลอกคราบที่เร็วขึ้นนั้นยังไม่มีรายงานชัดเจน แต่ปรากฏในฟาร์มปูนิ่มในประเทศไทยโดยเชื่อว่าจะกระตุ้นให้ปูลอกคราบเร็วขึ้น โดยการทำให้สูญเสียรยางค์โดยเหลือไว้แต่ขาว่ายน้ำ

4. การรักษาสมดุลออสโมติกและไอออนิก (Osmotic and Ionic Regulation)

ครัสเตเชียนสามารถแสดงระบบ osmoregultion ได้หลายรูปแบบ บางชนิดเป็น stenohaline คือทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำได้ในช่วงแคบๆ บางชนิดเป็น euryhaline คือทนทานต่อการเปลี่ยนความเค็มน้ำได้ในช่วงกว้าง โดยความสัมพันธ์ระหว่างค่าออสโมลาลิตี้ (osmolality) ภายในร่างกายกับน้ำภายนอก มักแสดงในรูปของ osmoconformity เรียกสัตว์กลุ่มนี้ว่า osmoconformer ซึ่งแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ภายในจะเปลี่ยนแปลงตามน้ำภายนอกตลอดช่วงของความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำ ความเข้มข้นของเลือด (hemolymph) และน้ำภายนอกจะมีแรงดันออสโมติกเท่ากันทั้งสองด้าน (isosmotic) ตัวอย่างสัตว์กลุ่มนี้ได้แก่ *Pollicipes polymerus* และ *Porcellana platycheles* ส่วนสัตว์กลุ่ม osmoregulator จะพยายามรักษาระดับความเข้มข้นออสโมติกภายในให้ค่อนข้างคงที่ อาจจะมากกว่าหรือน้อยกว่าน้ำภายนอกตลอดช่วงของความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำ ตัวอย่างสัตว์กลุ่มนี้ได้แก่ *P. longipes* และ *Crangon crangon* เป็นต้น (Mantel และ Farmer, 1983)

โดยทั่วไป เมื่อความเข้มข้นของน้ำภายนอกลดลง (ความเค็มน้ำลดลง) จะมีผลต่อการแพร่กระจายของน้ำและไอออนที่เคลื่อนเข้าและออกร่างกายของสัตว์ผ่านทางพื้นผิวของเยื่อเลือกผ่าน (permeable surface) เมื่อน้ำมีความเค็มลดลง จะทำให้เกิดการแพร่ของน้ำจากภายนอกเข้าสู่ร่างกายสัตว์ แต่สัตว์ที่มีโครงสร้างแข็งภายนอก (exoskeleton) จะไม่สามารถขยายขนาดหรือพองตัวได้ตามปริมาตรที่เพิ่มขึ้น ทำให้แรงดันน้ำ (hydrostatic pressure) ภายในสูงขึ้นเรื่อยๆ และอาจจะตายในที่สุด ดังนั้นจึงต้องมีการลดความต่างของแรงดันออสโมติก (osmotic gradient) ลง เพื่อให้น้ำแพร่ผ่านเข้าร่างกายน้อยที่สุดและเพื่อให้การเปลี่ยนแปลงปริมาตรและความดันภายในร่างกายเกิดขึ้นน้อยที่สุด โดยมีกลไกในการรักษาสมดุล 2 ประเภท คือ 1. โดยกลไกจำกัด (limiting mechanisms) ที่จะทำให้มีรูรั่วน้อยที่สุด โดยอาจจะลด gradient ที่ทำให้น้ำแพร่กระจายเข้ามา หรือโดยการลดพื้นที่หรือลดการยอมให้สารผ่านได้ของเยื่อเลือกผ่าน และ 2. กลไกการชดเชย (compensatory mechanisms) ที่จะมีการสร้างตัวต้านทานการเคลื่อนที่ (counter-movement) ของตัวถูกละลายที่มีขนาดอนุภาค เท่าๆ กัน สามารถแบ่งระบบ osmoregultion ได้ดังนี้ (Mantel และ Farmer, 1983)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4.1 กลไกจำกัด - Osmoconformity (Limiting Mechanisms - Osomconformity)

ระบบนี้มีจุดมุ่งหมายที่ลดการแพร่ของไอออนและน้ำเพื่อลดความเข้มข้นและความต่างของแรงดันออสโมติกระหว่างเลือดกับน้ำภายนอก ซึ่งรูปแบบของกลไกนี้จะพบในครัสเตเชียนที่อาศัยในทะเลและในน้ำกร่อยที่เป็น osmoconformer

4.2 กลไกการชดเชย - Osmoregulation (Compensatory Mechanisms - Osmoregulation)

สัตว์ในระบบนี้จะรักษาสภาวะของของเหลวภายในร่างกายให้ความเข้มข้นภายในร่างกายสูงกว่าภายนอก (hyperosmotic) เมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำ ทำให้พวก osmoregulator ไม่ต้องเผชิญกับภาระที่เกิดกับเนื้อเยื่อภายในร่างกายมากนัก อย่างไรก็ตามปัญหาของการแพร่เข้าของน้ำก็ยังคงมีอยู่ แต่ก็สามารถควบคุมได้โดยลดการยอมให้น้ำเข้า การเพิ่มการขับน้ำออกผ่านทางปัสสาวะ (urine) และการเพิ่มการนำเกลือแร่จากน้ำภายนอกเข้าสู่ร่างกาย การลดการยอมให้น้ำและเกลือแร่เข้าสู่ร่างกายเป็นวิธีการหนึ่งของสัตว์กลุ่มนี้ ทั้งในการรักษาสมดุลแบบ hyperregulation และ hyporegulation จะมีเยื่อบุผิวที่ทำหน้าที่เฉพาะ (specialized boundary epithelia) เหงือกแบบพิเศษ ลำไส้และอวัยวะขับถ่ายที่รับผิดชอบในการขนส่งเกลือแร่แบบใช้พลังงาน (active) ไปสู่น้ำภายนอก หรือนำเข้ามาจากน้ำภายนอก

5. การรักษาสมดุลไอออน (Ionic Regulation)

เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่าไอออนที่เป็นองค์ประกอบของเลือดจะมีความแตกต่างกับน้ำภายนอก (Robertson, 1944, 1953, 1960 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) โดยไม่คำนึงถึงความสัมพันธ์ของระบบออสโมติก การเปรียบเทียบกันโดยตรงของไอออนที่เป็นองค์ประกอบในน้ำภายนอก, ในเลือดและในปัสสาวะ มักจะทำให้เกิดความผิดพลาดได้เนื่องจากผลกระทบของโปรตีนที่มีมากถึง 10% ในเลือดมีผลให้น้ำที่เป็นองค์ประกอบของของเหลวทั้ง 3 แหล่งไม่เท่ากัน

ความเข้มข้นของโซเดียมและคลอรีนในเลือดมักจะใกล้เคียงกับค่าที่จุดสมดุลเมื่อสัตว์อยู่ในน้ำทะเล และศักย์ไฟฟ้าที่เป็นลบจำนวนเล็กน้อยมักจะถูกนำมานับด้วย ซึ่งที่จุดสมดุลนี้มักจะทำให้ในเลือดมีค่าโซเดียมมากเกินจริง และมีคลอรีนน้อยกว่าค่าจริงเมื่อเทียบกับน้ำภายนอก มักจะพบว่าโปแตสเซียมในเลือดมีความเข้มข้นมากกว่าในน้ำภายนอก แม้ว่าบางส่วนอาจจะมาจากการปนเปื้อนโดยเซลล์ถ้ามีการนำเลือดทั้งหมดมาใช้ในการวิเคราะห์

การรักษาสมดุลของไอออนที่มีประจุ 2 หน่วย (divalent ion) ยิ่งมีความซับซ้อนมากกว่า บางส่วนของแคลเซียมและแมกนีเซียม จะเกิดพันธะกับโปรตีนหรือไอออนอื่นๆ และไม่แสดงความเป็นไอออน ตัวอย่างเช่น ปู *Gecarcinus lateralis* มีแคลเซียมทั้งหมดในเลือด 22 mmol ในขณะที่มีเพียง 8.6 mmol ในเลือดที่ผ่านการกรองอย่างละเอียดเพื่อขจัดโปรตีนออกไป นั่นคือมีแคลเซียมจับตัวกับโปรตีนอยู่ถึง 13.4 mmol (Skinner et al., 1965 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) แคลเซียมที่เกิดพันธะกับสารอื่นจะมีประมาณ 10% ของแคลเซียมทั้งหมดในเลือดของ *Emerita asiatica* (Sitaramaiah และ Krishnan, 1966 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) อีกทั้งใน crayfish *Austropotamobius pallipes* มีแคลเซียมที่อยู่ในรูป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ของไอออนน้อยกว่า 50% ในขณะที่ส่วนอื่นๆ ไปเกิดพันธะกับโปรตีน, ไอออนของสารอินทรีย์ขนาดเล็กหรือกับสารอนินทรีย์ เช่น SO_4^{2-} , HCO_3^-, PO_4^{2-}, และ CO_3^{2-} (Greenaway, 1972 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) ส่วนใน *Orconectes limosus* พบว่ามีแคลเซียมที่อยู่ในรูปไอออนอยู่ 82% และแมกนีเซียมก็พบว่าเป็นเช่นเดียวกัน (Andrews, 1976 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

divalent ion ที่มีการรักษาสมดุลไว้ได้เป็นอย่างดี คือ Mg^{2+} และ SO_4^{2-} เมื่อสัตว์อยู่ในน้ำทะเลความเข้มข้นของแมกนีเซียมไอออนจะอยู่ระหว่าง 20 - 80% ของความเข้มข้นในน้ำทะเล โดย มีรายงานการศึกษาที่พบว่า *Hyas*, *Lithodes* และ *Dromia* มีความเข้มข้นของแมกนีเซียมในร่างกายประมาณ 80% ของแมกนีเซียมในน้ำทะเล หรือในปู *Uca* sp. และปู *Ocypode quadrata* มีความเข้มข้นของแมกนีเซียมในร่างกายมากกว่า 65% ของแมกนีเซียมในน้ำทะเล ส่วนปู grapsids พบว่ามีความเข้มข้นของแมกนีเซียมในร่างกายประมาณ 20 – 30% ของน้ำทะเล ซึ่งเหมือนกับในเดคาปอด (decapod) ที่อาศัยบนบกและกึ่งบกชนิดอื่นๆ (Robertson, 1960 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

6. กลไกของระบบ Osmoregulation

ในสัตว์ครัสเตเชียนพวก euryhaline เช่น ปู *C. maenas* จะสามารถทนต่อสภาพสิ่งแวดล้อมทางด้านความเค็มน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปได้ซึ่งสภาพนี้เรียกว่า "hyperregulation" และ "hyporegulation" สัตว์เหล่านี้มีความสามารถที่จะรักษาระดับความเข้มข้นของเลือดให้คงที่ในระหว่างที่สัตว์มีการปรับตัวต่อความเค็มน้ำที่เปลี่ยนแปลงไป เซลล์จะมีการต้านต่อ osmotic stress ซึ่งจะมากเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการควบคุมความเข้มข้นในเลือด (Gilles และ Pequeux, 1981) ซึ่งการควบคุมระดับความเข้มข้นของเลือดภายในร่างกายกับน้ำภายนอกนั้นมีอยู่ 2 รูปแบบ ดังนี้

6.1 Hyperregulation

สิ่งมีชีวิตที่อาศัยในน้ำจืดหรือน้ำทะเลที่มีความเจือจางกว่าเลือดของมัน จะต้องเผชิญกับการแพร่เข้าของน้ำภายนอกร่างกายและการสูญเสียไอออนออกไปสู่สิ่งแวดล้อม แต่ก็สามารถลดภาวะเหล่านี้ได้โดยการลดการนำน้ำและไอออนผ่านเข้าออกโดยการลดขนาดของเยื่อเลือกผ่านให้มีขนาดเล็กลง ซึ่งตามปกติแล้วพวก osmoconformer จะมีการยอมให้สารผ่านเข้าออกได้มากกว่าพวก osmoregulator และจะมีการเปลี่ยนแปลงการยอมให้สารผ่านเข้าออกน้อยเมื่อน้ำภายนอกมีความเค็มลดลง ใน congeneric amphipods ได้แก่ *Gammarus duebeni*, *G. pulex*, *G. lacustris*, *G. zaddachi* และ *G. tigrinis* จะลดการยอมให้โซเดียมผ่านเมื่ออยู่ในสภาวะที่ความเค็มน้ำลดลง (Shaw และ Sutcliffe, 1961, Sutcliffe, 1967a,b, 1968 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

ใน moderate regulator เช่น *C. maenas* (Shaw, 1961 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) แสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงการยอมให้สารผ่านเข้าออกน้อย ส่วนในพวก strong regulator เช่น *Palaemonetes* sp. พบว่าอัตราการสูญเสียเกลือแร่ผ่านทางพื้นผิวภายนอกจะลดลงเป็นเวลาสั้นๆ เมื่อนำไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อยู่ในน้ำความเค็มต่ำ ส่วนพวก hyperregulator จะลดการยอมให้น้ำผ่านเข้าออกเมื่อต้องเผชิญกับน้ำความเค็มต่ำ

Rhithropanopeus harrisi ซึ่งเป็น hyperosmotic regulator ที่น้ำความเค็มต่ำและเป็น isosmotic ที่น้ำความเค็มปกติ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของน้ำที่ผ่านเข้าออกร่างกายเพิ่มขึ้น 145% ต่อชั่วโมง เมื่ออยู่ในน้ำความเค็ม 45% น้ำทะเล การแลกเปลี่ยนโดยการแพร่จะลดลงเหลือ 70% ต่อชั่วโมง และเมื่ออยู่ในน้ำความเค็ม 1% น้ำทะเล การแลกเปลี่ยนการแพร่จะลดลงเหลือ 10% ต่อชั่วโมง (Smith, 1967 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) และยังพบรูปแบบเช่นนี้ในปู *U. pugilator* และ *C. sapidus* (Hannan และ Euans, 1973, Robertson, 1982 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

ใน moderate hyperregulator เช่น *C. maenas* ที่มีการยอมให้น้ำแพร่ผ่านเข้าออกได้มากแสดงให้เห็นว่ามีการยอมให้น้ำผ่านลดลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำจาก 263% ต่อชั่วโมงในน้ำทะเลปกติ เป็น 176% ต่อชั่วโมงในน้ำความเค็ม 40% น้ำทะเล รวมทั้ง isopod *S. serratum* ที่อาศัยในเขตน้ำขึ้นน้ำลง มีการลดการยอมให้น้ำผ่านเข้าออกจาก 820% ต่อชั่วโมง เมื่ออยู่ในน้ำทะเลเป็น 200% ต่อชั่วโมงในความเค็ม 50% น้ำทะเล ซึ่งเกิดขึ้นภายใน 30 นาทีเท่านั้น และยังพบว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการลดความเข้มข้นของโซเดียมและคลอรีนในน้ำภายนอกด้วย (Smith, 1970, Thuet, 1978 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

6.2 Hyporegulation

เมื่อสัตว์อยู่ในน้ำที่มีความเค็มสูง สัตว์จะมีการปรับตัวโดยทำให้ของเหลวในร่างกายมีความเข้มข้นต่ำกว่าภายนอกเพราะที่ระดับความเค็มน้ำสูงจะมีเกลือแร่เข้าสู่ร่างกายโดยมาพร้อมกับน้ำปริมาณที่มาก ดังนั้นสัตว์จะมีปรับให้มีความเข้มข้นที่น้อยลงโดยการขับเกลือแร่ออกและรักษาน้ำไว้ให้ได้มากที่สุด ซึ่งเป็นการยากที่จะวัดการยอมให้ผ่านของไอออนได้อย่างแม่นยำ เพราะมักจะมีการแลกเปลี่ยนองค์ประกอบของไอออนที่ไหลออกจากร่างกายอยู่ตลอดเวลา

ในสัตว์ที่มีความสามารถอย่างมากในการปรับระดับสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายจะแสดงภาวะ hyperosmotic เป็นการกระตุ้นการรับน้ำเข้าภายในตัว ซึ่งจะแพร่ผ่านเข้าสู่ลำไส้และจะพยายามรักษาเกลือแร่ไว้ภายในตัวให้มากที่สุดเพื่อปรับสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายเมื่อสภาวะสิ่งแวดล้อมมีความเข้มข้นเกลือแร่ต่ำกว่าภายในตัว (Passano, 1960) และในสัตว์ที่สามารถปรับสมดุลเกลือแร่ได้ไม่ดีนักจะมีค่าออสโมลาลิตี้ต่ำ ทำให้ระบบการแพร่ผ่านเข้าออกของแร่ธาตุต่างๆ ไม่ค่อยสมบูรณ์ ทำให้ต้องใช้พลังงานอย่างมากในการปรับสมดุล (Smith, 1976, Mykles, 1980 อ้างโดย Passano, 1960) การปรับสมดุลนี้จะเป็นตัวรักษาค่าความดันออสโมติกภายในร่างกายให้มีความสัมพันธ์กันอย่างคงที่กับสภาพแวดล้อมภายนอก ซึ่งก็คือการปรับระดับค่าความเข้มข้นภายในร่างกายให้มีค่าสูงหรือต่ำกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอกที่อาศัยอยู่ การปรับสมดุลดังกล่าวเพื่อให้สิ่งมีชีวิตสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้เมื่อสิ่งแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลง จะพบได้ในสิ่งมีชีวิตพวกครัสเตเชียน ซึ่งมีรูปแบบการปรับสมดุลแตกต่างกันออกไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ครัสเตเชียนที่อาศัยในน้ำกร่อยส่วนมากจะปรับสภาพสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายให้สูงกว่าน้ำภายนอก (hyperosmotic) ระดับความเข้มข้นของเกลือแร่ในเลือดจะสูงกว่าน้ำที่อาศัยอยู่ สัตว์ที่อาศัยในน้ำจืด น้ำทะเล เช่นกุ้งน้ำจืด กุ้งทะเล (Caridea และ Penaeids) ปู (Grapsid และ Xanthid) รวมทั้งสัตว์ชนิดอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ในน้ำกร่อย พบว่าเลือดจะอยู่ในสภาวะ hyposmotic กับน้ำทะเลปกติและจะปรับสภาพเป็นสภาวะ hyperosmotic เมื่ออยู่ในความเค็มน้ำที่ต่ำลง การรักษาระดับ hyposmotic ในสภาพปกติของปู (Grapsid) และกุ้งบางชนิดทำได้ 2 ทางคือ ทางแรกการดูดน้ำจะเป็นแบบค่อยเป็นค่อยไป ทางที่ 2 การดื่มน้ำเข้าไปโดยตรงเหมือนเช่นปลากระดูกแข็งและในเวลาเดียวกันจะขับเกลือที่มากเกินออกมาทางเหงือก (ประจวบ, 2537)

ส่วนใหญ่แล้วสัตว์พวกครัสเตเชียนที่อาศัยอยู่ในน้ำเค็มนั้น ในเลือดของสัตว์จะมีชนิดและปริมาณของอิออนใกล้เคียงกับของน้ำทะเล ซึ่งส่วนใหญ่แล้วประกอบด้วยโซเดียมและคลอรีน และแรงดันออสโมติกของเลือดก็มาจากอิออนสองตัวนี้เช่นกัน นอกจากนั้นก็มีพวกอิออนอื่นๆ บ้าง เช่น แมกนีเซียม ซัลเฟต และแคลเซียมอิออน เป็นต้น แต่จะมีอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะแมกนีเซียมในเลือดของครัสเตเชียนจะมีอยู่น้อยกว่าในน้ำทะเลมาก ถึงแม้องค์ประกอบของอิออนรวมในเลือดกับในน้ำทะเลจะต่างกันบ้าง แต่มันก็สามารถควบคุมให้อยู่ในภาวะสมดุลได้ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของอิออนรวมในเลือดกุ้ง อันเนื่องมาจากการปรับตัวทางด้าน สรีรวิทยาต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำภายนอก อิออนตัวที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นคือ โซเดียม และคลอรีนอิออน ส่วนอิออนตัวอื่นๆ นั้นจะมีปริมาณค่อนข้างคงที่หรือเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (Parry, 1954 อ้างโดย ดาริน, 2531)

อิออนรวมที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นเมื่อความเค็มเปลี่ยนแปลง เป็นอิออนรวมที่อยู่ในของเหลวภายนอกเซลล์ (extracellular fluid) ซึ่งได้แก่เลือดนั่นเอง เลือดนี้จะหมุนเวียนไปทั่วร่างกายโดยการสูบฉีดของหัวใจ ปริมาตรของของเหลวนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับว่ากุ้งและปูอยู่ในระยะใดของกระบวนการลอกคราบ องค์ประกอบของของเหลวภายในตัวจะค่อนข้างคงที่ ส่วนอวัยวะที่ใช้ในการปรับสมดุลของของเหลวในร่างกายสัตว์เหล่านี้มี 3 แห่งคือ green gland หรือ maxillary gland เป็นอวัยวะที่คอยควบคุมปริมาณเกลือ เหงือกควบคุมอิออนพวก monovalents เช่น โซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียมอิออน ส่วนลำไส้เล็กจะเป็นตัวควบคุมปริมาณอิออนพวก divalence เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟตอิออน เป็นต้น (Potts และ Parry, 1964)

7. ความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการเมตาบอลิซึม และเอนไซม์ กับการขนส่งในเหงือก

โดยทั่วไปครัสเตเชียนที่เป็น osmoregulator จะเพิ่มอัตราเมตาบอลิซึมเมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำ ในขณะที่พวก osmoconformer จะลดอัตราเมตาบอลิซึมเมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำ สาเหตุของการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้มาจากทั้งพฤติกรรมของสัตว์และลักษณะทางสรีรวิทยา ซึ่งยังไม่เป็นที่เข้าใจมากนัก จากการศึกษาในเนื้อเยื่อเหงือกเมื่อแยกออกมา พบว่าเมื่อนำสัตว์ประเภท hyperregulator ไปอยู่ในสภาวะ isosmotic จะมีอัตราเมตาบอลิซึมสูงขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสัตว์เหล่านี้ต้องไปอยู่ในน้ำความเค็มต่ำอย่าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ฉับพลัน การที่ต้องปรับตัวต่อน้ำความเค็มต่ำเป็นเวลานาน มักจะทำให้อัตราเมตาบอลิซึมของเหงือกลดลง (Dehnel และ McCaughran, 1964, King, 1965, 1966, Quinn และ Lane, 1966, Mantel, 1967, Dehnel, 1974, Engle และ Eggert, 1974, Engle et al., 1975 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

อาจจะเป็นไปได้ที่ส่วนหนึ่งของการเพิ่มการบริโภคออกซิเจน (oxygen consumption) จะมาจากกิจกรรมของ cation-activated ATPase เอนไซม์นี้มีความเกี่ยวข้องกับการขนส่งไอออนบวก (cation) ในเนื้อเยื่อของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ซึ่งก็ได้มีการศึกษาในเหงือกและ antennal glands ของ isopod และ decapod รวมทั้งในตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของ *Artemia salina* ด้วย เอนไซม์ที่ศึกษาใน ครัสเตเชียนเหล่านี้เหมือนกันกับที่พบในเนื้อเยื่อขนส่งของสัตว์มีกระดูกสันหลัง โดยพบอยู่ใน plasma membrane ของเซลล์ที่ทำให้แตก เอนไซม์นี้ต้องการแมกนีเซียม โซเดียม และไอออนต้านทาน (counter ion) เช่น NH_4^+ หรือ K^+

ครัสเตเชียนที่เป็น hyperosmoregulators ได้แก่ ปู *Callinectes sapidus*, *Carcinus maenas*, crayfish และ *Sphaeroma serratum* พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในเหงือกจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อสัตว์เหล่านี้มีการปรับตัวอยู่ในน้ำความเค็มต่ำลง (Phillipot, 1972 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) ในปู *C. sapidus* พบว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดจะถึงจุดสมดุลใหม่ภายใน 12 ชั่วโมงหลังจากย้ายปูไปอยู่ในน้ำความเค็มต่ำ และกิจกรรมของ ATPase จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่ถึงชั่วโมงหลังจากย้ายปู (Towle et al., 1976 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) อย่างไรก็ตามมีการพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์นี้จะเพิ่มขึ้นสูงสุดหลังจากการปรับตัวเป็นเวลา 1 – 2 สัปดาห์แล้วเท่านั้น พร้อมกันกับการเพิ่มของกิจกรรมในเหงือกส่วนกลาง (Neufeld et al., 1980 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์กับการปรับตัวเมื่อเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำนั้นไม่เป็นไปโดยตรงเสมอไป โดยเฉพาะในปูบกและปูกึ่งบก ดังเช่นใน *Metagrapsus tukuhar* และ *Cyclograpsus henshawi* มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดที่น้ำความเค็ม 75% และ 25% ของน้ำทะเล ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปูทั้งสองชนิดก็สามารถปรับตัวให้อยู่ในน้ำความเค็มต่ำได้ (Spencer et al., 1979 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) ในปู *U. pugilator* มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นเมื่อย้ายไปอยู่ในน้ำความเค็มต่ำลง แต่กิจกรรมของเอนไซม์ก็ยังเพิ่มไม่ถึงจุดสูงสุด จนกระทั่งย้ายปูไปอยู่ในน้ำใหม่ 100 ชั่วโมงจึงจะถึงจุดสูงสุด ในขณะที่ความเข้มข้นออสโมติกคงที่หลังจากย้ายปูเป็นเวลาเพียง 10 ชั่วโมง (Mantel และ Landesman, 1977 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) และการย้ายปูไปสู่น้ำความเข้มข้นภายนอกสูงกว่าภายในร่างกายไม่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลง (Graszynski et al., 1979 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

ปูที่เป็น osmoconformer เช่น *Libinia emarginata* และ *Calappa hepatica* มีกิจกรรมของ ATPase ประมาณ 10% ของพวกที่เป็น osmoregulator และกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหรือไม่เพิ่มเลยเมื่อย้ายปูไปสู่น้ำความเค็มต่ำ (Mantel และ Landesman, 1977, Spencer et al., 1979 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ในครัสเตเชียนที่เป็น osmoregulator และปูกึ่งบก พบว่ากิจกรรมของ ATPase ในเหงือกส่วนหลัง (posterior gills) มีมากกว่าเหงือกส่วนหน้า (anterior gills) และกิจกรรมของเหงือกส่วนหลังจะเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากเมื่อย้ายสัตว์ไปอยู่ในน้ำความเค็มต่ำลง (Pequeux และ Gilles, 1978, Spencer et al., 1979, Neufeld et al., 1980 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) ซึ่งความแตกต่างนี้มีความสัมพันธ์กับความแตกต่างในโครงสร้างขนาดเล็กของเหงือกส่วนหน้าและเหงือกส่วนหลัง ในปู *L. emarginata* ซึ่งเป็น osmoconformer พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในเหงือกส่วนหน้าและเหงือกส่วนหลังไม่มีความแตกต่างกัน (Mantel และ Landesman, 1977 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) และยังไม่พบว่ามีการศึกษาถึงโครงสร้างขนาดเล็กของเหงือกในพวก osmoconformer

อาจจะเป็นไปได้ที่ Na – K activated enzyme ทำหน้าที่ในการนำเกลือจากน้ำความเค็มต่ำเข้าสู่ร่างกาย เพราะมีการเพิ่มกิจกรรมขึ้นอย่างรวดเร็วในเหงือกของพวก osmoregulator ที่ไปอยู่ในน้ำความเค็มต่ำ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์อื่นๆ และองค์ประกอบของกระบวนการ เมตาบอลิซึมก็เกิดขึ้นด้วย องค์ประกอบของลิปิด (lipid) มีในเหงือกส่วนหลังมากกว่าเหงือกส่วนหน้าในสัตว์ที่เป็น hyperregulator เช่นปู *Eriocheir sinensis* โดยเฉพาะฟอสโฟลิปิด (phospholipid) จะมีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นเมื่อย้ายสัตว์ไปอยู่ในน้ำจืด และผลของเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกันนี้ก็ยังพบในปู *C. sapidus* แต่ไม่พบในสัตว์ที่เป็น osmoconformer เช่นปู *L. emarginata* เป็นที่รู้กันดีว่าฟอสโฟลิปิดมีความจำเป็นต่อการทำงานของ ATPase และดูเหมือนว่าฟอสโฟลิปิดจะมีความ เข้มข้นมากขึ้นเมื่อมีกิจกรรมของเอนไซม์มากขึ้น (Chapelle et al., 1975, 1976, Chapelle, 1977 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

การเปลี่ยนแปลงในรูปแบบของเมตาบอลิซึมของพลังงาน (energy metabolism) นอกเหนือไปจากความสัมพันธ์กับลิปิดอาจจะมีความสำคัญเช่นกัน โดยพบว่า *A. salina* จะมีการขนส่งคลอรีนแบบใช้พลังงาน (active transport) ซึ่งจัดเป็นกลไกหลักในการขับเกลือออกจากร่างกายทั้งในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย (ในเนื้อเยื่อขนส่งเกลือ) พบว่าในระยะนอเพลียส ระดับของ ATP ในไซโตพลาสซึมจะลดลงเมื่อความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น นั่นคือกระบวนการขนส่งกำลังถูกกระตุ้น นอกจากนี้การสูญเสียของไกลโคเจนที่เก็บสะสมไว้ก็ถูกกระตุ้นเช่นกัน (Conte et al., 1980 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

หน้าที่ของ ATPase ในเหงือกมีความเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลทั้งแบบ hyperosmotic และ hypoosmotic ในพวก hyporegulator เอนไซม์อาจจะทำหน้าที่ขนส่งโซเดียมออกจากร่างกาย จากหลักฐานในปลาทะเล ชี้ให้เห็นว่าโซเดียมถูกขับเข้าสู่ช่องว่างภายนอกเซลล์ (extracellular space) และถูกขับออกไปสู่น้ำภายนอกต่อไป โดยอาจจะผ่านรอยต่อระหว่างเซลล์ ใน *Fundulus heteroclitus* นั้น เอนไซม์จะอยู่บริเวณฐานและข้าง (basolateral) ของ chloride cells ซึ่งเป็นบริเวณที่สามารถเคลื่อนย้ายโซเดียมจากช่องว่างภายในเซลล์ (intracellular space) เข้าสู่ hypertrophied basal tubular system อันเป็นที่เชื่อมต่อกับพื้นที่ว่างภายนอกเซลล์โดยตรง ทำให้คิดว่าน่าจะมีการให้ energy gradient เพื่อให้การเคลื่อนย้ายคลอรีนมีประสิทธิภาพ (Degnan et al., 1977, Silva et al., 1977 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) มีการศึกษาระบบทั้งหมด พบว่าเอนไซม์มีที่ตั้งอยู่บนส่วนฐานและผิวด้านข้างของเซลล์ โดยไม่คำนึงถึงทิศทางของการขน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่งโซเดียมผ่านทางเยื่อบุผิว (epithelium) ทั้งหมด เอนไซม์จะอยู่ในทิศทางที่จะสูบโซเดียมออกจากเซลล์เข้าสู่ช่องว่างระหว่างเซลล์ (Di Bona และ Mills, 1979 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) ส่วนในพวก hyperagulator เอนไซม์น่าจะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการนำเกลือเข้าสู่ร่างกาย แต่กลไกของการนำโซเดียมและคลอรีนเข้าและออกจากร่างกายในเหงือกพวกครัสเตเชียนยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

8. ผลของความเค็มน้ำต่อการเจริญเติบโต การลอกคราบ การพัฒนาการ การเจริญพันธุ์ และการรอดตาย

ระดับความเค็มน้ำมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต การลอกคราบ การพัฒนาการ (metamorphosis) การเจริญพันธุ์ และการรอดตายของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน ซึ่งทราบกันดีแล้วว่าสัตว์ดังกล่าวนี้ต้องทำการลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโต การลอกคราบที่บ่อยส่งผลให้มีการเจริญเติบโตเร็วขึ้น ในทางตรงกันข้าม การไม่ลอกคราบหรือลอกคราบช้า สัตว์ก็จะโตช้าหรือมีการพัฒนาการช้า หากไม่มีการลอกคราบเป็นเวลานานก็จะส่งผลให้สัตว์เครียดและตายในที่สุด ระดับความเค็มน้ำที่เหมาะสมต่อปัจจัยดังกล่าวต่อสัตว์ครัสเตเชียนแต่ละชนิดนั้นจะมีความแตกต่างกันไป หรือในสัตว์ชนิดเดียวกันก็ยังมีความแตกต่างกันไปตามขบวนการพัฒนาการ วัย เพศ และการเจริญพันธุ์อีกด้วย ทั้งนี้เนื่องจากความเค็มน้ำจะไปมีอิทธิพลโดยตรงต่อระบบสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายสัตว์กลุ่มนี้ หรือความแตกต่างที่เกิดขึ้นนั้นเนื่องจากสัตว์แต่ละชนิด เพศ ระบบการพัฒนาการ จะมีระบบสมดุลเกลือแร่ที่แตกต่างกันไป จึงส่งผลให้ไปควบคุมกลไกทางสรีรเคมีแตกต่างกันและส่งผลกระทบต่อการอยู่รอดและการเจริญเติบโตในที่สุด (Mantel และ Farmer, 1983)

8.1 ผลของความเค็มน้ำต่อการพัฒนาการและการเจริญเติบโต

ความเค็มน้ำมีผลต่อการพัฒนาการของลูกปูทะเล (*S. serrata*) กล่าวคือ ความเค็มจะมีอิทธิพลต่อการเจริญของปูทะเลในระยะ zoea โดยจะมีอัตราการรอดตายสูงเมื่ออยู่ในน้ำความเค็ม 17.5 ppt ลูกปูในระยะ megalopa จะมีระยะพัฒนาการ 11 – 12 วัน ในระดับความเค็มน้ำ 29 – 34 ppt แต่ถ้าความเค็มน้ำลดลงอยู่ในช่วงระหว่าง 21 – 27 ppt จะใช้เวลาในการพัฒนาการเพียง 7 – 8 วัน แต่เมื่อลูกปูเข้าสู่ระยะที่เป็นตัวปู (crab stage) ความเค็มน้ำช่วง 21 – 22 ppt จะทำให้ปูมีการเจริญเติบโตดีกว่าที่ระดับ 25 – 26 ppt และ 30 – 31 ppt (ชลธี, 2539) ยังมีผลต่อการพัฒนาการของโพสลาวา (post larva) กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) โดยลูกกุ้งมีการเจริญเติบโตดีที่สุดที่ความเค็มน้ำ 10 – 15 ppt หลังจากทำการทดสอบอนุบาลที่ความเค็มน้ำช่วง 6 – 25 ppt (Popper และ Davidson, 1980) รวมทั้งยังส่งผลต่อการพัฒนาการของลูกกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ระยะ post larva หลังจากทำการทดสอบตั้งแต่ในน้ำความเค็มช่วง 2 – 35 ppt พบว่าระดับความเค็มน้ำ 10 – 15 ppt ส่งผลให้ลูกกุ้งกุลาดำมีการพัฒนาการเร็วที่สุด (Sloan, 1981) ขณะที่พบว่าความเค็มน้ำ 32 ppt และอุณหภูมิน้ำ 9°C มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนของกุ้งทะเลลึก (*Pandalus borealis*) หลังจากทำการทดสอบที่ความเค็มในช่วง 22 – 34 ppt ร่วมกับอุณหภูมิน้ำในช่วง 3 – 12°C (Wienberg, 1982) นอกจากนี้ Rosas et al. (1999b) ยังพบว่าความเค็มน้ำมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของลูกกุ้ง *Litopenaeus setiferus* โดยจะเปลี่ยนแปลงตามช่วงอายุ ลูก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กุ้งระยะ post larva 10 – 15 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดที่ความเค็มน้ำ 40 ppt และต่ำสุดที่ 10 ppt ในขณะที่ระยะ post larva 15 – 21 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดที่ความเค็มน้ำ 10 ppt ทำนองเดียวกัน Spivak (1999) รายงานว่าการพัฒนาการของตัวอ่อนที่อยู่ในระยะ instar 1 – 4 ของปู *Cryptograpsus altimanus* ใช้เวลาอยู่ในระยะคราบแข็ง (intermolt) นานที่สุดที่ความเค็มน้ำ 3 ppt และใช้เวลาน้อยที่สุดที่ความเค็มน้ำ 30 ppt ในทางตรงกันข้ามเมื่อลูกปูอยู่ในระยะ instar 5 – 6 จะใช้เวลาอยู่ในระยะคราบแข็งนานที่สุดที่ความเค็มน้ำ 21 ppt และใช้เวลาน้อยที่สุดที่ความเค็มน้ำ 3 ppt

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาอิทธิพลร่วมกันระหว่างความเค็มและอุณหภูมิน้ำ กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) ระยะวัยรุ่น (juvenile) มีการเจริญเติบโตเร็วที่สุดความเค็มน้ำ 30 ppt ร่วมกับอุณหภูมิน้ำ 31°C อย่างไรก็ดีถึงแม้ความเค็มและอุณหภูมิที่สูงนี้จะทำให้กุ้งโตเร็วที่สุด แต่การเจริญเติบโตที่เร็วเกินไปนี้ทำให้กุ้งเก็บสะสมโปรตีนได้ไม่ดีนักและยังทำให้มีอัตรารอดต่ำอีกด้วย ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้กุ้งมีการเพิ่มผลผลิตสูงสุดควรเป็นที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt และอุณหภูมิ 28°C (Staples และ Heales, 1991) รวมทั้งมีการทดลองเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยที่เข้าสู่ระยะ post larva 32 จนถึงระยะก่อนโตเต็มวัย (adolescent) ที่ระดับความเค็มน้ำต่างกัน 3 ระดับ คือ 10, 20 และ 30 ppt พบว่าที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt มีความเหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยระยะนี้มากที่สุด เมื่อพิจารณาจากการเจริญเติบโต (น้ำหนักและความยาว) น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย (สุขจิรา , 2543)

8.2 ผลของความเค็มน้ำต่อการลอกคราบ

ความเค็มน้ำมีผลต่อการลอกคราบน้อยมากสำหรับสัตว์ที่อาศัยอยู่ในทะเลหรือน้ำจืดโดยตรง แต่จะมีผลต่อการลอกคราบของสัตว์ที่อาศัยอยู่ในน้ำกร่อยมาก (ประจวบ, 2537) ขณะที่ปู *C. sapidus* เลี้ยงในน้ำความเค็มสูงและต่ำไม่มีผลต่อ น้ำหนัก ความหนา และความหนาแน่นของกระดอง (Price Sheets และ Dendinger, 1983)

8.3 ผลของความเค็มน้ำต่อการเจริญพันธุ์

ความเค็มน้ำมีผลต่อต่อการเจริญพันธุ์ของปู *C. sapidus* ดังรายงานการศึกษาของ Fisher (1999) ที่พบว่า ปู *C. sapidus* เพศเมียจะสมบูรณ์เพศได้เร็วขึ้น เมื่ออุณหภูมิและความเค็มน้ำสูงขึ้น สอดคล้องกับผลการวิจัยในกุ้ง *C. crangon* เพศเมียที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 25 ppt จะมีการสร้างไข่ได้เร็วกว่าที่ความเค็มน้ำ 15 ppt ส่วนที่ความเค็มน้ำ 5 ppt กุ้งจะไม่มีการสร้างไข่ นั่นคือที่ความเค็มน้ำ 15 ppt จะทำให้การพัฒนาการสร้างไข่ช้าลง และที่ความเค็มน้ำ 5 ppt จะยับยั้งความสมบูรณ์เพศของกุ้งชนิดนี้ และยังพบด้วยว่าที่ความเค็มน้ำ 25 ppt กุ้งมีความดกไข่มากกว่าที่ความเค็มน้ำ 15 ppt (Gelin et al., 2001)

8.4 ผลของความเค็มน้ำต่อการรอดตาย

ในสภาวะที่น้ำมีความเค็มต่ำหรือสูงเกินไป จะทำให้สิ่งมีชีวิตเกิดความเครียดในการปรับสมดุลเกลือแร่ ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตลดลงและอาจทำให้อัตราการตายเพิ่มขึ้นได้ โดยที่น้ำความเค็มต่ำมักจะส่งผลให้อัตรารอดและการเจริญเติบโตของตัวอ่อนปูต่ำในหลายชนิด เช่น spider crab (*Hyas araneus*), Chinese mitten crab (*E. sinensis*), grapsid crab (*Armases miersi*) และ *Sesarma*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

angustipes (Anger, 1985, 1991, 1996, Anger et al., 1990 อ้างโดย Spivak, 1999) ทำนองเดียวกัน พบว่ากุ้ง *Palaemon affinis* มีอัตรารอดต่ำ (< 35%) เมื่อเลี้ยงในน้ำความเค็ม 0.5 ppt แต่มีอัตรารอดสูงมากกว่า 75% เมื่อเลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 – 43 ppt (Kirkpatrick และ Jones, 1985) เช่นเดียวกับกุ้ง *Crangon crangon* จะมีอัตราการตายสูงสุดเมื่อเลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ppt เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงที่ความเค็ม 15 และ 25 ppt (Gelin et al., 2001)

การปรับตัวให้เข้ากับความเค็มน้ำได้ดีเท่าไรนั้นยังขึ้นอยู่กับวัยของสัตว์น้ำด้วยดังรายงานในกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) ที่มีอายุมากกว่าจะมีความสามารถในการปรับตัวให้มีชีวิตรอดในสภาพน้ำความเค็มต่ำได้ไม่ดีเท่ากับกุ้งที่มีอายุน้อยกว่า (Cawthorne et al., 1983) เช่นเดียวกันนี้ในกุ้ง *P. setiferus* และ *P. stylirotris* (Castille และ Lawrence, 1981a อ้างโดย Cawthorne et al., 1983) กุ้ง *P. merguiensis*, *P. esculentus*, *P. plebejus* และ *Metapenaeus benettae* (Dall, 1981) ในทางกลับกันกุ้ง *P. affinis* มีความแตกต่างออกไปกล่าวคือกุ้งมีความทนทานต่อความเค็มน้ำเพิ่มขึ้นตามขนาดและอายุของกุ้งที่เพิ่มขึ้น และยังพบว่ากุ้งที่มีการพัฒนาไข่มีความทนทานมากที่สุดด้วย (มีอัตรารอดสูงสุด) (Kirkpatrick และ Jones, 1985)

9. ผลของความเค็มน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงของแร่ธาตุ และสารอินทรีย์ต่างๆ ในร่างกาย

รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของค่าออสโมลาลิตี้ของปู *E. sinensis* และ *C. maenas* โดยเมื่อความเค็มน้ำลดลงจากระดับปกติ (น้ำทะเล 35 ppt) เหลือเพียงครึ่งหนึ่ง ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดก็ลดลงจากประมาณ 1000 mOsm/l เป็น 550 mOsm/l (Gilles และ Pequeux, 1981) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับปริมาณไอออนในน้ำ โดยทั่วไปแล้วครัสเตเชียนที่อาศัยในทะเลจะมีช่วงของระบบรักษาสมดุลไอออนที่กว้าง ความแตกต่างของไอออนที่เป็นองค์ประกอบในเลือดและในน้ำทะเล มักจะมีความเกี่ยวพันกับ Na^+, K^+ และ Ca^{2+} โดยมักจะพบว่าในเลือดสัตว์มีระดับความเข้มข้นสูงกว่าในน้ำทะเลและไอออน 3 ชนิดดังกล่าวมีระดับความเข้มข้นสูงกว่า Mg^{2+} และ SO_4^{2-} โดยความเข้มข้นของ Mg^{2+} และ SO_4^{2-} มักพบในเลือดต่ำกว่าในน้ำทะเล ส่วนระดับของ Cl^- ในเลือดมักจะมีความใกล้เคียงกับในน้ำทะเล (Gardiner, 1972)

การเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำนั้นจะส่งผลกระทบต่อระบบสรีระและการเปลี่ยนแปลงของแร่ธาตุภายในตัวสัตว์ ซึ่งสัตว์แต่ละชนิดจะแสดงการตอบสนองที่คล้ายกันหรือแตกต่างกัน ดังรายงานของ Hagerman และ Uglow (1982) ที่กล่าวว่ากุ้ง *C. crangon* เมื่ออยู่ในสภาวะออกซิเจนและความเค็มน้ำต่ำระดับของคลอรีนในเลือดจะลดลงจนกระทั่งคงที่ แต่ยังคงมีระดับคลอรีนสูงกว่าน้ำภายนอกร่างกาย ในขณะเดียวกันระดับแคลเซียมกลับเพิ่มมากขึ้น โดยสามารถรักษาระดับของแคลเซียมในเลือดให้สูงกว่าน้ำภายนอกตลอดความเค็มน้ำช่วง 10, 15 และ 20 ppt ซึ่งการที่สัตว์สามารถรักษาระดับของแคลเซียมเอาไว้ได้นี้ เกิดจากการนำแคลเซียมเข้าร่างกายจากน้ำภายนอกด้วยกลไกแบบใช้พลังงาน (active uptake) รวมทั้งการดูดซึมแคลเซียมกลับจากยูรีน และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณของแคลเซียมในเลือดของกุ้งชนิดนี้ที่เลี้ยงในน้ำความเค็มทั้ง 3 ระดับ พบว่าที่ 15 ppt มีปริมาณแคลเซียมในเลือดสูงกว่าที่ความเค็มน้ำอื่นๆ และเมื่อ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

วัดค่า pH ของเลือดก็พบว่ามีค่าสูงขึ้นเล็กน้อย ทั้งๆ ที่มีการสะสมของแลกเตท (lactate) ในเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นถึง ประสิทธิภาพของระบบบัฟเฟอร์ [HCO_3^- + CO_3^{2-}] ส่วนระดับของโซเดียม แมกนีเซียม และค่าออสโมลาลิตี้ (osmolality) ของเลือดไม่มีการเปลี่ยนแปลง สอดคล้องกับรายงานของ Knowton และ Kirby (1984) ที่ศึกษาความทนทานต่อความเค็มและการรักษาสมดุลโซเดียมของกุ้ง *P. pugio* ก็พบว่าความเข้มข้นของโซเดียมในเลือดมีค่าคงที่ตลอดช่วงความเค็มน้ำ 1 – 40 ppt ทำนองเดียวกัน ปู *Branchinecta sandiegonensis* และ *Streptocephalus woottoni* สามารถรักษาระดับของ Na^+ ในเลือดให้คงที่ได้ ถึงแม้ว่าระดับของ Na^+ ภายนอกมีเปลี่ยนแปลงไปในช่วงระหว่าง 0.5 – 60 mmol/l (Gonzalez et al., 1996) ส่วนปู *C. sapidus* มีการรักษาระดับของ Na^+ และ Cl^- ในเลือดให้สูงกว่าในน้ำภายนอกตลอดช่วงการเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำจาก 865 m-osmol ไปจนถึง 250 m-osmol (Henry และ Cameron, 1982) ใกล้เคียงกันกับปู *O. quadrata* ที่พบว่าระดับของ Na^+ ในเลือดจะเปลี่ยนแปลงแปรผันตามความเค็มของน้ำภายนอก กล่าวคือ ระดับ Na^+ จะเจือจางลงเมื่อปูอยู่ในน้ำความเค็มต่ำและเพิ่มสูงขึ้นเมื่อปูอยู่ในน้ำความเค็มสูง โดยปูจะรักษาระดับของ K^+ ให้ค่อนข้างคงที่ (Santos และ Moreira, 1999) ส่วนไมซิด *Leptomysis mediterranea* มีความเข้มข้นของ Na^- และ Cl^- ในเลือดใกล้เคียงกับในน้ำภายนอกที่ความเค็มน้ำต่ำและจะมีความเข้มข้นต่ำกว่าในน้ำภายนอกที่น้ำความเค็มปกติและน้ำความเค็มสูง ส่วนความเข้มข้นของ K^+ ในเลือดมีค่าใกล้เคียงกับในน้ำภายนอกที่น้ำความเค็มต่ำ แต่จะมีความเข้มข้นสูงกว่าในน้ำภายนอกที่น้ำความเค็มปกติและความเค็มสูง (Lucu, 1978) ระดับความเข้มข้นของ Na^+ และ Cl^- ในเลือดของกุ้งมังกร *P. longipes* มีการเปลี่ยนแปลงแปรผันตามความเค็มของน้ำภายนอก ส่วนระดับความเข้มข้นของ K^+ ในเลือดจะแปรผกผันกับความเค็มน้ำภายนอก โดยจะเท่ากับน้ำภายนอกที่ความเค็มน้ำปกติ และจะเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเมื่อความเค็มน้ำลดลง และเจือจางลงเมื่อความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น (Dall, 1974)

Greenway (1981) ได้รายงานไว้ว่าปูน้ำจืด *Holthuisana transversa* สามารถรักษาสมดุลของ Na^- เมื่อสภาพความเข้มข้นของน้ำภายนอกต่ำมากๆ ได้ และสามารถทนทานเมื่อนำปูไปใส่ในน้ำทะเล 80% โดยตรง หลังจากที่ปูปรับตัวแล้ว พบว่าระดับ Na^+ และ Ca^{2+} ในเลือดจะสูงขึ้นมากกว่าในน้ำภายนอกร่างกาย ในขณะที่ระดับของ Mg^{2+} ปรับลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wheatly (1985) ที่พบว่าปู *Cancer magister* มีการรักษาระดับของ electrolyte ต่างๆ ให้สูงกว่าน้ำภายนอกร่างกาย ยกเว้น Mg^{2+} ที่มีระดับต่ำกว่าน้ำภายนอกร่างกาย และปู *O. quadrata* ก็มีการรักษาระดับของ Mg^{2+} ให้ต่ำกว่าระดับของน้ำภายนอกที่ความเค็มน้ำ 12 – 48 ppt เช่นเดียวกัน (Santos และ Moreira, 1999) รวมทั้งในกุ้งมังกร *P. longipes* ที่มีระดับของ Mg^{2-} ในเลือดประมาณ 1 ใน 3 ของแมกนีเซียมในน้ำภายนอกตลอดความเค็มน้ำภายนอกในช่วง 20 – 40 ppt (Dall, 1974) ส่วนกุ้งมังกร *H. americanus* มีการรักษาระดับของ Ca^{2-}, Mg^{2+} และ So_4^{2-} ในเลือดให้คงที่ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ Cl^- จะถูกปรับให้มีระดับต่ำกว่าน้ำภายนอก แต่ K^+ จะมีการปรับระดับให้ใกล้เคียงกับน้ำภายนอก (Malley, 1977 อ้างโดย Phillips et al., 1980)

190645

10. ผลของความเค็มน้ำต่อกลไกต่างๆ ทางสรีระ

กระบวนการควบคุมสมดุลไอออนมีความสัมพันธ์กับเอนไซม์ Na^+/K^+-ATPase (Mangum และ Towle, 1977, Towle, 1981 อ้างโดย Henry และ Cameron, 1982) เมื่อมีการปรับตัวไปสู่น้ำความเค็มต่ำ ทั้งกิจกรรมและความเข้มข้นของเอนไซม์นี้ที่อยู่ในเหงือกจะเพิ่มสูงขึ้น (Towle et al., 1976, Neufeld et al., 1980 อ้างโดย Henry และ Cameron, 1982) และยังมีการทำหน้าที่ของเอนไซม์ branchial carbonic anhydrase ในกระบวนการดังกล่าวด้วย (Henry และ Cameron, 1982)

Watanabe (1982) ได้ศึกษาการควบคุมสมดุลของ Na^+ และ Cl^- ในเลือดของปู *Hemigrapsus sanguineus* ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 50 – 75% ของน้ำทะเล พบว่าปูมีกลไกในการรักษาสมดุลของ Na^+ และ Cl^- ได้เป็นอย่างดีในช่วงความเค็มน้ำดังกล่าว และยังพบว่ากิจกรรมเฉพาะ (specific activity) ของเอนไซม์ Na^++ K^+-ATPase ในเหงือกส่วนหลัง (posterior gill) มีมากกว่าเหงือกส่วนหน้า (anterior gill) โดยในเหงือกส่วนหลังจะมีกิจกรรมเฉพาะของเอนไซม์ชนิดนี้ เพิ่มขึ้น 1.5 เท่า เมื่อย้ายปูจากน้ำความเค็ม 100% ของน้ำทะเลไปสู่ความเค็ม 50% ของน้ำทะเล โดยการดูดซึม Na^+ ของปูในน้ำความเค็มต่ำน่าจะมาจากการทำหน้าที่ของเหงือกส่วนหลัง ซึ่งมีกิจกรรมเฉพาะของเอนไซม์สูง สอดคล้องกับรายงานของ Pequeux และ Gilles (1978) ที่ศึกษาในปู *E. sinensis* พบว่าความสามารถของเหงือกส่วนหน้าในการควบคุม Na^- ที่เป็นองค์ประกอบ มีน้อยกว่าเหงือกส่วนหลัง รวมทั้งกิจกรรมเฉพาะของเอนไซม์ Na^++ K^+-ATPase ในเหงือกส่วนหน้ามีน้อยกว่าเช่นกัน และยังพบอีกว่ากิจกรรมเฉพาะของเอนไซม์ Na^++ K^+-ATPase ในเหงือกของปูที่นำไปใส่ในน้ำจืดมีมากกว่าในปูที่อยู่ในน้ำทะเล

กิจกรรมของเอนไซม์ขนส่ง (transporting enzyme) ที่มีการตอบสนองต่อการดูดซึม Na^+ จะเพิ่มขึ้นถึง 80% ในปู *C. sapidus* เมื่อปรับความเค็มน้ำลดลงจาก 28 ppt จนเหลือ 5 ppt (Towle, 1974, อ้างโดย Mangum et al., 1976) และยังพบว่าค่า pH ของเลือดปูชนิดนี้มีการเปลี่ยนแปลงแบบแปรผกผันกับความเค็มน้ำ เมื่อความเค็มน้ำลดลงจะทำให้ค่า pH ของเลือดสูงขึ้น (Weiland และ Mangum, 1975 อ้างโดย Mangum et al., 1976 ; Henry และ Cameron, 1982) โดย Henry และ Cameron (1982) ได้อธิบายไว้ว่า การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด – ด่างในเลือดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำของปูชนิดนี้มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มสัดส่วนความแตกต่างของไอออนหลักคือ Na^+- Cl^- และมีความสัมพันธ์กับเอนไซม์ carbonic anhydrase และ ion-activated ATPase

สัตว์ที่ไม่ค่อยมีการตอบสนองและเฉื่อย (inactive) เช่น *Hyas*, *Lithodes* และ *Dromia* มีความเข้มข้นของ Mg^{2+} ประมาณ 80% ของ Mg^{2+} ในน้ำทะเล ในขณะที่สัตว์ที่มีความว่องไวกว่า (active) จะมีความเข้มข้นของ Mg^{2+} น้อยกว่า 50% ของในน้ำทะเล คาดว่า Mg^{2+} จะไปยับยั้ง anesthetic effect บนรอยต่อของ neuromuscular ดังนั้น ถ้ามี Mg^{2+} ในเลือดมาก ก็จะทำให้สัตว์มีความว่องไวน้อยลง (Robertson, 1960 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) แต่ก็มีข้อยกเว้นในปู *Uca* sp. และ *O. quadrata* ซึ่งเป็นปูที่มีความว่องไวกว่ามากทั้งคู่ กลับมีความเข้มข้นของ Mg^{2+} มากกว่า 65% ของ Mg^{2+} ในน้ำทะเล จากการศึกษาในปู grapsids พบว่ามีความเข้มข้นของ Mg^{2+} ระหว่าง 20 – 30% ของน้ำทะเล ซึ่งเหมือนกับในเดคาปอดที่อาศัย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บนบกและกึ่งบกชนิดอื่นๆ แสดงให้เห็นว่า Mg^{2+} มีผลต่อคุณสมบัติเกี่ยวกับหน้าที่ของ respiratory pigment hemocyanin โดยพบว่า เมื่อ Mg^{2+} มีความเข้มข้นมาก จะเพิ่มความสามารถในการจับออกซิเจนของ hemocyanin ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์ที่ขุดรูอยู่อาศัย (Felder, 1978 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

Moreira et al. (1982) ได้ศึกษาผลของความเค็มน้ำต่ออัตราเมตาบอลิซึม (QO_2) ของกุ้ง palaemonid ระยะ first zoea 5 ชนิด ได้แก่ *M. acanthurus*, *M. carcinus*, *M. heterochirus*, *M. olfersii* และ *P. northropi* พบว่ากุ้งทุกชนิดมีอัตราเมตาบอลิซึมที่ความเค็มน้ำต่ำ (0 ppt) สูงกว่าที่ความเค็มน้ำสูง (35 ppt) สอดคล้องกับรายงานของ Rosas et al. (2001) ที่พบว่าอัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้ง *L. vannamei* เพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเค็มน้ำลดลง โดยมีค่าสูงสุดที่ความเค็มน้ำ 5 ppt และต่ำสุดที่ 30 ppt และยังพบการเปลี่ยนแปลงอัตราการบริโภคออกซิเจนเช่นเดียวกันนี้ใน *Fenneropenaeus indicus* ระยะวัยรุ่น, ในปู blue crab *C. similis* และใน *P. pugio* (Kutty et al., 1971, Rosas et al., 1991, Venberg และ Piyatirativorakul, 1998 อ้างโดย Rosas et al., 2001) และสอดคล้องกับข้อมูลที่ว่าโดยทั่วไปครัสเตเชียนที่เป็น osmoregulator จะเพิ่มอัตราเมตาบอลิซึมเมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำ ในขณะที่พวกที่เป็น osmoconformer จะลดอัตราเมตาบอลิซึมลงเมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำ (Mantel และ Farmer, 1983) โดย Rosas et al. (1999b) ยังพบว่าความเค็มน้ำมีผลต่ออัตราการบริโภคออกซิเจนเปลี่ยนแปลงตามช่วงอายุและความเค็มของตัวอ่อนกุ้ง *L. setiferus* โดยตัวอ่อนในระยะ post larva 10 – 15 มีอัตราการบริโภคออกซิเจนสูงสุดที่ความเค็มน้ำ 10 ppt และต่ำสุดที่ความเค็มน้ำ 40 ppt ส่วนตัวอ่อนในระยะ post larva 15 – 21 มีอัตราการบริโภคออกซิเจนสูงสุดที่ความเค็มน้ำ 30 และ 40 ppt

จากการศึกษาในกุ้ง *M. olfersii* ของ Lima et al. (1997) พบว่าหลังจากการปรับตัวเป็นเวลา 10 หรือ 20 วัน ต่อการอยู่ในน้ำความเค็มช่วง 0.5 – 28 ppt พบว่าค่าออสโมลาลิตี้ยังคงรักษาสภาพความเข้มข้นของของเหลวในร่างกายสูงกว่าน้ำภายนอกมาก (strongly hyperosmotic) เมื่อกุ้งอยู่ในน้ำความเค็มต่ำถึงปานกลาง แล้วค่อยๆ เป็นสภาพ hyperosmotic เมื่ออยู่ในน้ำความเค็มสูง แต่ในทางกลับกัน Na^+ และ Cl^- ในเลือดจะมีสภาพเป็น hyperegulated เมื่อกุ้งอยู่ในน้ำความเค็มสูง

จากการศึกษาในปู *C. sapidus* เมื่อความเค็มน้ำลดลงจาก 35 ppt เป็น 28 ppt พบว่า ระดับ NaCl และค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดลดลง ส่วนระดับของแอมโมเนียในเลือดเพิ่มสูงขึ้น แต่อัตราการขับแอมโมเนียไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อความเค็มน้ำลดลงจาก 28 ppt เป็น 5 ppt พบว่า ระดับของแอมโมเนียในเลือดเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แต่อัตราการขับแอมโมเนียจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าและระดับ NaCl ในเลือดก็เริ่มสูงกว่าในน้ำภายนอก (Lynch et al., 1973 อ้างโดย Mangum et al., 1976) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของความเค็มน้ำที่มีต่อการผลิตยูรีนในปูหลายชนิด ได้แก่ *C. magister*, *C. maenas*, *Pachygrapsus crassipes*, *Goniopsis cruentata* และ *Hemigrapsus nudus* พบว่า เมื่อย้ายปูจากน้ำความเค็มปกติไปสู่น้ำความเค็มต่ำ อัตราการไหลเวียนของยูรีนในร่างกายจากระดับปกติ 1–5% ของน้ำหนักร่างกายต่อวัน จะเพิ่มเป็น 11–60% ของน้ำหนักร่างกายต่อวัน (Gross และ Marshall, 1960, Shaw, 1961, Binns,

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1969, a, b, Holliday, 1978a, Zanders, 1978, Dehnel และ Malley, 1980, อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) ซึ่งการเพิ่มอัตราการไหลเวียนของยูรีนในร่างกายจะทำให้ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดลดลงและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาตรหรือความดันในร่างกายด้วย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดนี้ก็สามารถเกิดขึ้นได้เมื่อสิ่งมีชีวิตต้องเผชิญกับสภาวะความเค็มน้ำต่ำ (Mantel และ Farmer, 1983) และพบว่าแรงดันน้ำ (hydrostatic pressure) ที่วัดจากลำไส้ส่วนต้น (foregut) หรือแอ่งเลือดบริเวณขาเพิ่มขึ้นเมื่อย้ายปู *C. maenas* จากน้ำทะเลไปสู่น้ำความเค็ม 50% น้ำทะเล หลังจากนั้น 3 – 4 ชั่วโมง แรงดันน้ำจะตกอย่างรวดเร็ว แล้วเพิ่มขึ้นอีก ซึ่งจะเป็นเช่นนี้สลับกันไปตลอดเป็นเวลาหลายชั่วโมง (Norfolk, 1978 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลของความเค็มน้ำต่อการลอกคราบ การเพิ่มขนาด และการรอดตาย

จากการทดลองเลี้ยงปูทะเลขนาดความกว้างของกระดองเฉลี่ย 71±5 มิลลิเมตร น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 78 ± 15 กรัม ในถังไฟเบอร์ขนาด 250 ลิตร ที่ระดับความเค็มน้ำ 5,10,15,20 และ 25 ppt ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 75 วัน ปรากฏผลดังนี้

1. ระยะเวลาลอกคราบ

ระยะเวลาในการลอกคราบหมายถึง ระยะเวลาที่ปูใช้เวลาในการลอกคราบจากระยะ C_3 จนลอกคราบ พบว่าปูเลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 5 และ 15 ppt ใช้เวลาในการลอกคราบ 36 และ 39 วัน ตามลำดับ สั้นกว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 25 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างไปจากปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 10 และ 20 ppt ($P>0.05$) (ตารางที่ 1 และรูปที่ 1)

2. จำนวนปูทะเลที่ลอกคราบ

จากการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์การลอกคราบของปูทะเลที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt มีค่าสูงสุด (100%) สูงมากกว่าปูกลุ่มที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 5,10,และ 25 pptอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 1 และ รูปที่ 2-3)

3. ขนาดของปูทะเลหลังการลอกคราบ

เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขนาดความกว้างของของกระดองของปูทะเลภายหลังการลอกคราบทุกระดับความเค็มน้ำพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีอัตราการเพิ่มความกว้างของกระดอง 12-15 % (9- 14 มิลลิเมตร) (ตารางที่ 1 และรูปที่ 4)

4. การตายและการตายสะสม

เปอร์เซ็นต์การตายระหว่างทำการเลี้ยงคือการตายของปูที่ยังไม่ได้ลอกคราบ โดยยังคงอยู่ในระยะคราบแข็ง พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายระหว่างทำการเลี้ยงทั้งความเค็ม 5 ระดับไม่มีความแตกต่างกันกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยปูที่เลี้ยงมีเปอร์เซ็นต์การตายระหว่างเลี้ยง 0-15% (ตารางที่ 1 และ รูปที่ 5)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5. การตายคาคราบ

การตายคาคราบหมายถึง การตายของปูในขณะที่กำลังลอกคราบแต่ลอกคราบไม่สำเร็จแล้วตาย พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายคาคราบของปูที่เลี้ยงระดับความเค็มน้ำ 25 ppt (23%) มากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) เริ่มจากปูจะมีการตายคาคราบสูงที่ความเค็ม 5ppt และลดลงเมื่อความเค็มสูงขึ้นจนไม่พบเลยที่ความเค็ม 20 ppt จนกระทั่งมีมากขึ้นเมื่อความเค็มสูงขึ้น (ตารางที่ 1 และรูปที่ 5)

6. การตายของปูหลังการลอกคราบ

อัตราการตายของปูหลังลอกคราบหมายถึง เปอร์เซ็นต์การตายของปูที่มีการลอกคราบแล้วตาย จากผลการทดลองพบว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 5 ppt มีเปอร์เซ็นต์การตายหลังการลอกคราบ (25 ± 4 %) สูงกว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 15, 20 และ 25 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) ขณะที่ไม่มีความแตกต่างกับปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 10 ppt เป็นที่น่าสนใจว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 20 ppt ไม่พบการตายหลังลอกคราบเลย อย่างไรก็ดีให้ผลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (*P>0.05*) กับปูที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 10,15 และ 25 ppt (ตารางที่ 1 และรูปที่ 5)

7. ระยะการลอกคราบของปูหลังเสร็จสิ้นการทดลอง

เมื่อมีการตรวจสอบระยะการลอกคราบของปู ภายหลังจากการเสร็จสิ้นการทดลองเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 75 วัน พบว่าปูทะเลที่ยังไม่ลอกคราบของทุกระดับความเค็มน้ำมีระยะการลอกคราบอยู่ในระยะก่อนลอกคราบ (mid premolt , stgae D_2) ทุกตัว

ตาราง ที่ 1 แสดงระยะเวลาในการลอกคราบ จำนวน ขนาดที่เพิ่มขึ้นของปูที่ลอกคราบ การตายของปูทะเล ที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 5 ระดับ เป็นเวลา 75 วัน

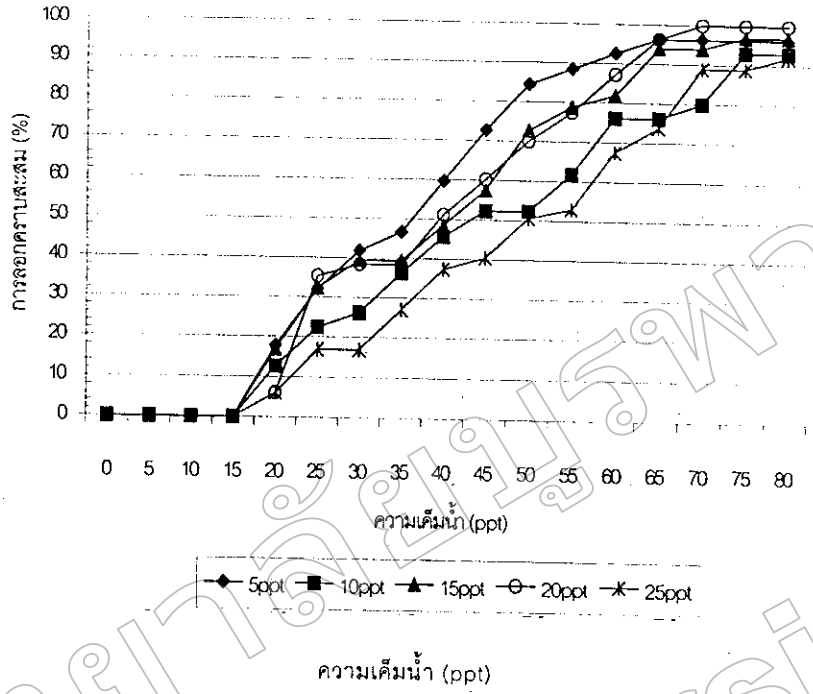
ผลการทดลอง	ความเค็มน้ำ (ppt)				
	5	10	15	20	25
ระยะเวลาในการ ลอกคราบ(วัน)	36 ± 4^{a}	41 ± 4^{ab}	39 ± 4^{a}	42 ± 4^{ab}	47 ± 4^{b}
จำนวนปูที่ลอกคราบ(%)	81 ± 3^{a}	82 ± 3^{a}	92 ± 3^{ab}	100 ± 0^{b}	87 ± 2^{a}
ความกว้างกระดองที่เพิ่มของปูหลังลอกคราบ(%)	13 ± 2^{a}	11 ± 2^{a}	14 ± 2^{a}	13 ± 2^{a}	14 ± 2^{a}
อัตราการตายของปูก่อนลอกคราบ(%)	15 ± 4^{a}	9 ± 3^{a}	3 ± 2^{a}	0 ± 0^{a}	3 ± 2^{a}
อัตราการตายคาคราบของปู(%)	8 ± 3^{a}	8 ± 3^{a}	0 ± 0^{a}	6 ± 2^{a}	23 ± 6^{b}
อัตราการตายของปูหลังลอกคราบ(%)	25 ± 4^{b}	13 ± 4^{ab}	9 ± 0^{a}	0 ± 0^{a}	3 ± 2^{a}

หมายเหตุ Mean ± SE (n = 21-37)

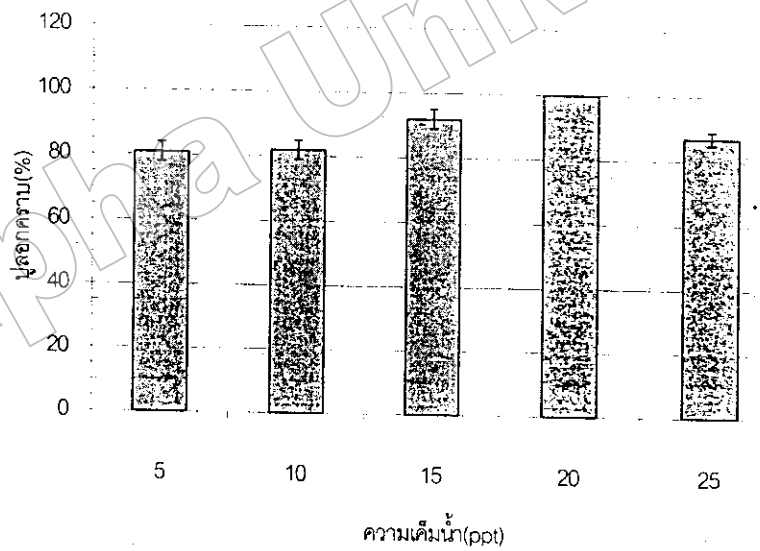
อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P> 0.05*)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P< 0.05*)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

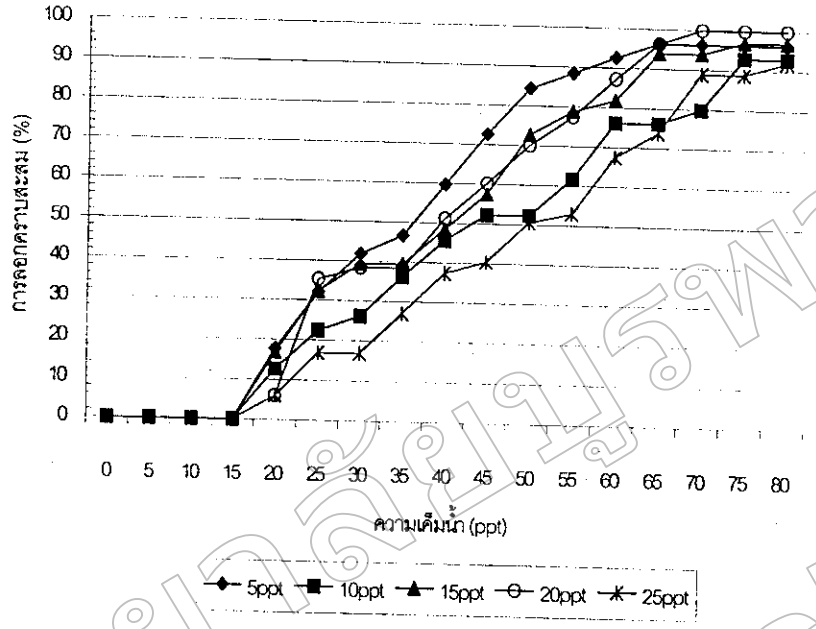


รูปที่ 1 ระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบของปูทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน

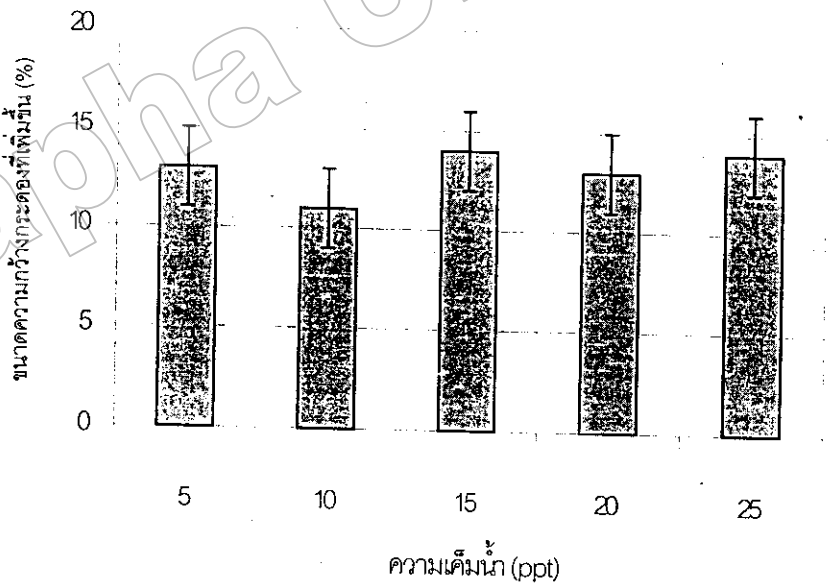


รูปที่ 2 เปอร์เซ็นต์การลอกคราบของปูทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

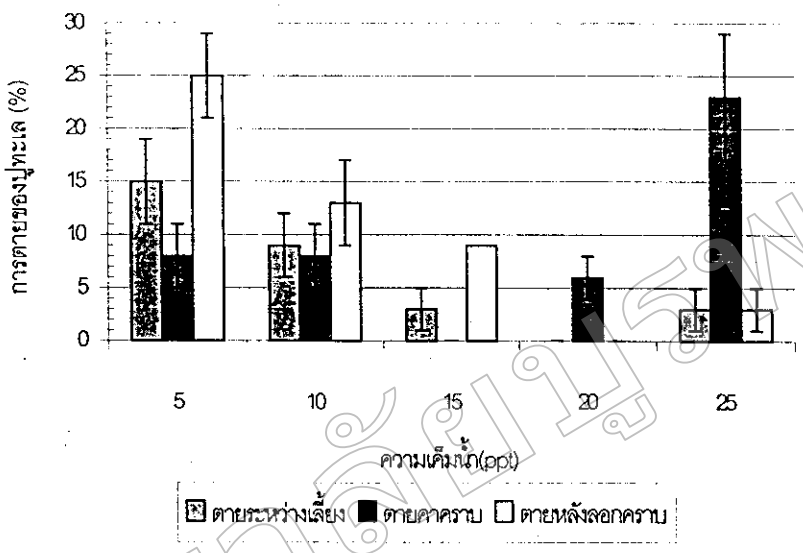


รูปที่ 3 เปอร์เซ็นต์การลอกคราบสะสมของปูทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน



รูปที่ 4 เปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นของกระดองหลังลอกคราบของปูที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 5 การตายของปูทะเล 3 ลักษณะที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ระดับ นาน 75 วัน

ผลของความเค็มน้ำต่อสรีระเคมีของปูทะเล

1. โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคน

จากการทำกราฟมาตรฐานของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคน ตามสมการเส้นตรงที่นำมาใช้ในการคำนวณปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตดังนี้

โปรตีน (mg/l) = -45.486 + 354.914Abs. ($r^2 = 0.991$)

คาร์โบไฮเดรต (mg/l) = 0.748 + 60.008Abs. ($r^2 = 0.996$)

ไกลโคสอะมิโนไกลแคน (mg/l) = -0.003 + 0.179 Abs ($r^2 = 0.992$)

Abs =ค่าดูดกลืนแสง

1.1 โปรตีน

ปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5 ppt มีระดับความเข้มข้นของโปรตีนมีค่าต่ำที่สุด (72.5±2.3 mg/ml) และสูงขึ้นในระดับความเค็มน้ำ 10 และ 15 ppt ตามลำดับ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P>0.05*) จนมีค่าสูงที่สุด (86.2±2.4 mg/ml) ช่วงระดับความเค็มน้ำ 20-25 ppt และสูงมากกว่าระดับความเค็มน้ำ 5 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) (ตารางที่ 2 และรูปที่ 6)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2 คาร์โบไฮเดรต

ระดับความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตมีค่าแปรผันตามระดับความเค็มน้ำ กล่าวคือคาร์โบไฮเดรตมีค่าต่ำสุดของปูทะเลที่เลี้ยงใน ความเค็มน้ำ 5 ppt (0.37±0.02 mg/ml) โดยต่ำกว่าปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 15, 20 และ 25 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) แล้วมีค่าสูงขึ้นเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้นจนสูงสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt (0.57±0.07 mg/ml) แต่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P>0.05*) กับปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 15 และ 25 ppt (ตารางที่ 2 และรูปที่ 7)

1.3 ไกลโคสอะมิโนไกลแคน

ระดับความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคนมีค่าแปรผันตามระดับความเค็มน้ำ โดยมีค่าต่ำสุดในปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5 ppt (5.62 ± 0.74 mg/l) แต่ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) กับปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 10 ppt และมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อความเค็มสูงขึ้นจนสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) ที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt (14.13 ± 1.32 mg/l) (ตารางที่ 2 และรูปที่ 8)

ตารางที่ 2 แสดงระดับความเข้มข้นของพลาสมาโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคนของปูทะเล (*S. serrata*) ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ

ความเค็มน้ำ	ความเข้มข้น (mg/ml)		
	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	ไกลโคสอะมิโนไกลแคน
5	72.5±2.3 [b]	0.37±0.02 [c]	0.0056±0.0007 [c]
10	78.3±4.4 [ab]	0.45±0.02 [b]	0.0058±0.0007 [c]
15	79.6±4.3 [ab]	0.52±0.04 [ab]	0.0094±0.0010 [b]
20	86.2 ±2.4 [a]	0.57±0.07 [a]	0.0124±0.0010 [a]
25	84.3±3.2 [a]	0.53±0.10 [ab]	0.0141±0.0013 [a]

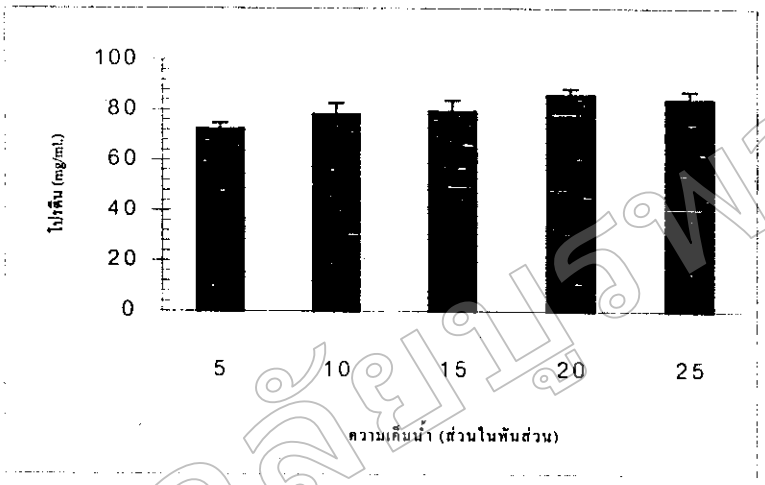
หมายเหตุ

Mean ± SE (n = 10-20)

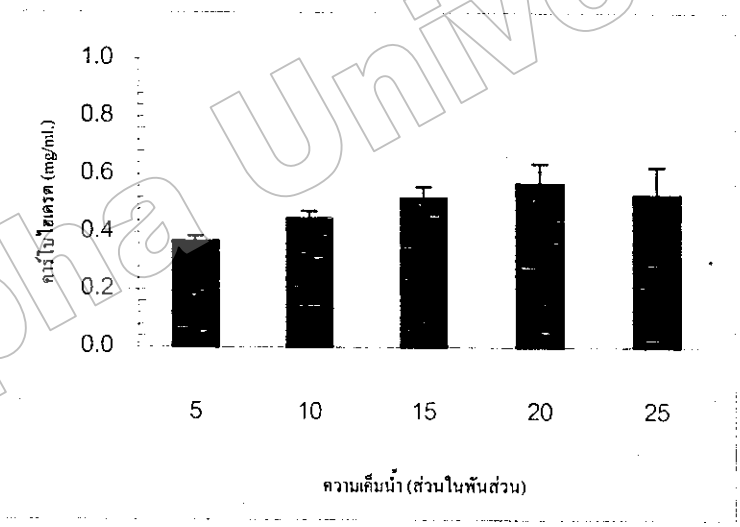
อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P>0.05*)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

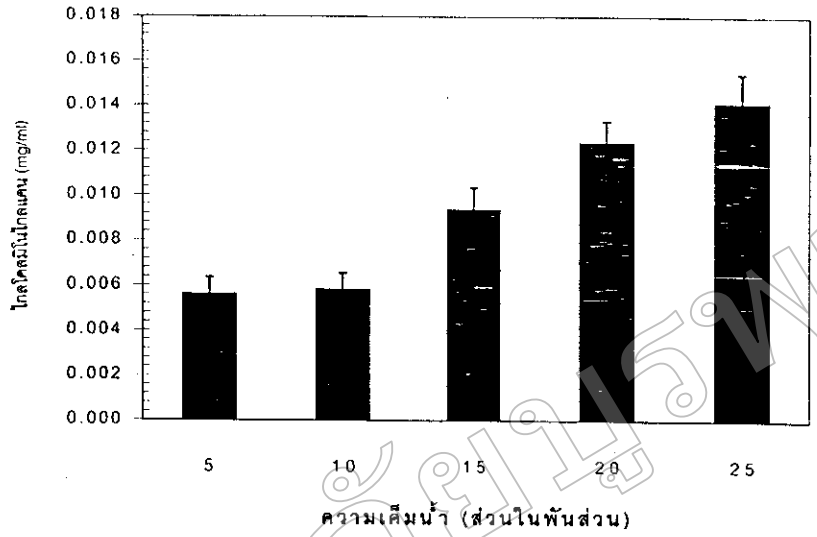


รูปที่ 6 ความเข้มข้นโปรตีนของพลาสมาปูทะเล (*S. serrata*) ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ



รูปที่ 7 ความเข้มข้นคาร์โบไฮเดรตของพลาสมาปูทะเล (*S. serrata*) ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 8 ระดับไกลโคสอะมิโนไกลแคนในพลาสมาของปูทะเล (*S. serrata*) ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ

2 ออสโมลาลิตี้ (Osmolality)

เมื่อทำการเลี้ยงปูทะเลในระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น โดยเพิ่มความเค็มน้ำขึ้นทุก 5 ppt จนถึงระดับความเค็มน้ำ 40 ppt พบว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดมีค่าสูงขึ้นตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 3 และรูปที่ 9) ซึ่งค่าความแตกต่างและค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลลดลงเรื่อยๆ โดยแปรผกผันกับระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น จนถึงระดับความเค็มน้ำ 30 ppt พบว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือด (863$\pm$8 mOsm) มีค่าเท่ากันกับค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำทะเล ซึ่งจะมีค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลเท่ากับ 1 โดยระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้นมากกว่า 30 ppt จนถึง 40 ppt ปูมีการปรับค่าออสโมลาลิตี้ในร่างกายต่ำกว่าค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำทะเล โดยมีค่าต่ำกว่าเล็กน้อยเท่ากับ 14 และ 33 mOsm/kg.H_2O หรือมีค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลลดลงเท่ากับ 0.99 และ 0.97 ในระดับความเค็มน้ำ 35 และ 40 ppt ตามลำดับ (รูปที่ 10)

ปูทะเลจะมีการปรับระดับค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดให้มีค่าสูงกว่าหรือต่ำกว่าค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำทะเลในระดับปานกลาง กล่าวคือหากปูทะเลอยู่ในสภาวะสิ่งแวดล้อมที่มีระดับความเค็มน้ำต่ำๆจะมีการปรับค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดให้มีค่าสูงกว่าน้ำทะเลและเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น โดยความแตกต่างจะลดลงจนถึงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ปูทะเลจะปรับค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดให้มีค่าเท่ากับน้ำทะเล จะมีการปรับค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดให้มีค่าต่ำกว่าน้ำทะเลเล็กน้อยเมื่อระดับความเค็มน้ำภายนอกเพิ่มสูงขึ้นกว่านี้ (รูปที่ 11)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

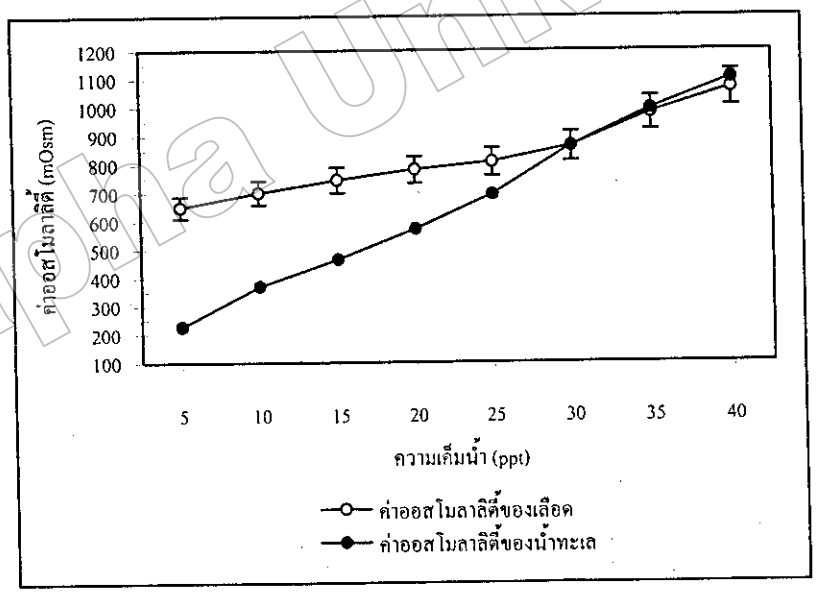
ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 8 ระดับ

ความเค็มน้ำ (ppt)	ค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำทะเล ($mOsm/kg.H_2O$)	ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปู ($mOsm/kg.H_2O$)
5	227	648±8 [a]
10	371	700±5 [b]
15	465	747±5 [c]
20	572	780±3 [d]
25	693	808±5 [de]
30	863	865±7 [f]
35	993	980±5 [g]
40	1100	1,069±4 [h]

หมายเหตุ Mean ± S.E., n = 10 - 22

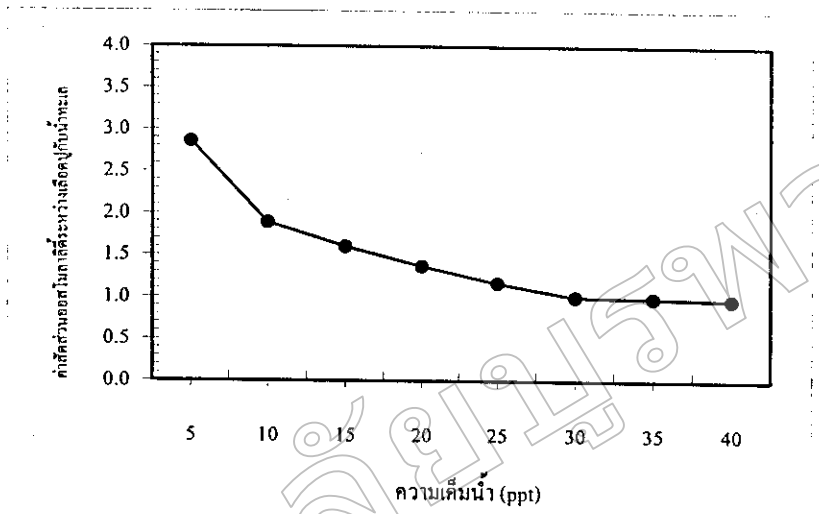
อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

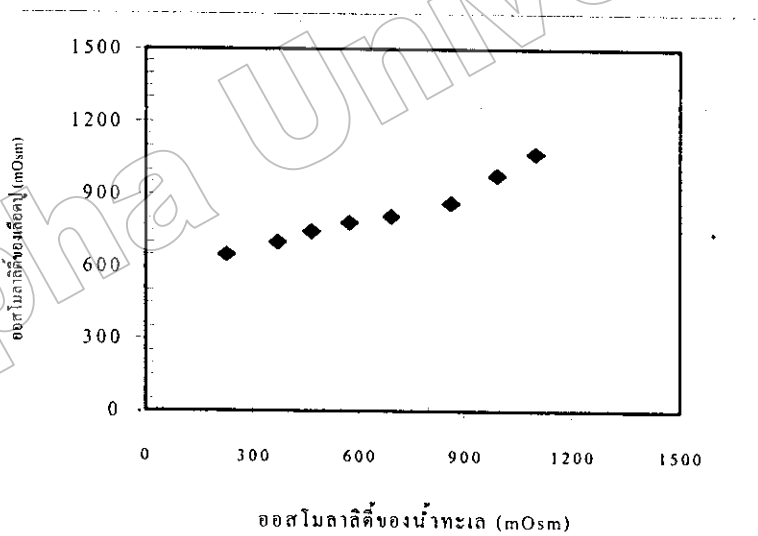


รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลและน้ำภายนอกภายใต้ความเค็มน้ำ 8 ระดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 10 การเปลี่ยนแปลงค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลภายใต้ความเค็มน้ำ 8 ระดับ



รูปที่ 11 รูปแบบการปรับสมดุลเกลือแร่แบบ moderate hyper- and hyporegulator ของปูทะเล

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3) ปริมาณแร่ธาตุในเลือด

3.1 โซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียม

จากการทดลองพบว่า ปริมาณของโซเดียมมีค่าความเข้มข้นสูงที่สุดทุกระดับความเค็มน้ำ เมื่อเปรียบเทียบกับธาตุที่เหลืออีก 3 ชนิด คลอรีนมีค่ารองลงมา โดยความเข้มข้นของแร่ธาตุ 3 ชนิด ได้แก่ โซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียม ในพลาสมาปูทะเลมีค่าสัมพันธ์กับระดับความเค็มน้ำที่เลี้ยงปูทะเล กล่าวคือจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้น จนธาตุทั้ง 3 ชนิดมีค่าสูงสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt โดยมีค่าเท่ากับ 496±14 mmol/l, 341±3 mmol/l, 10.9±0.3 mmol/l ตามลำดับ ถึงแม้ว่าจะมีค่าที่เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) สำหรับโซเดียม (ตารางที่ 4 และรูปที่ 12)

3.2 แคลเซียม

ปริมาณของแคลเซียมในพลาสมาปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 15 ppt มีค่าสูงสุด (14.9± 0.4 mmol/l) สูงกว่าปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างไปจากปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 10 และ 20 และ 25 ppt ($P>0.05$) ใน (ตารางที่ 4 และรูปที่ 12)

3.3 แมกนีเซียม และซัลเฟอร์

ปริมาณของแมกนีเซียมในพลาสมาปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 20 ppt มีค่าสูงสุด (31.9± 3.6 mmol/l) สูงกว่าปูที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 -15 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างไปจากปูที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 25 ppt ($P>0.05$) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 13)

ปริมาณของซัลเฟอร์ในพลาสมาปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 20 ppt มีค่าสูงสุด (45.9±0.9 mmol/l) สูงกว่าปูที่เลี้ยงระดับความเค็มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ขณะที่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของปูที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5, 10, 15 และ 25 ppt ($P>0.05$) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 13)

3.4 แมงกานีส ทองแดง และฟอสฟอรัส

ปริมาณของแมงกานีสและทองแดงในพลาสมาปูทะเลมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเค็มสูงขึ้นจาก 5 ถึง 20 ppt และลดลงที่ความเค็ม 25 ppt โดยพบว่าค่าแมงกานีสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 14) ขณะที่ปริมาณทองแดงที่พบในปูเลี้ยงในน้ำความเค็ม 20 ppt มีค่าสูงกว่าที่เลี้ยงใน 5 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 14)

ปริมาณฟอสฟอรัสในพลาสมาปูทะเลจะมีค่าลดลงจากปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5 ppt จนมีค่าต่ำสุดที่ 15 ppt และ เพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งที่ความเค็ม 20 ppt โดยมีค่าสูงสุด (2.6±0.4 mmol/l) สูงกว่าปูที่เลี้ยงระดับความเค็มน้ำ 10 และ 15 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) ขณะที่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างของปูที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5, 20 และ 25 ppt ($P>0.05$) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 14)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4) ปริมาณแร่ธาตุในเปลือก

4.1 แคลเซียมและแมกนีเซียม

ปริมาณของแคลเซียมในเปลือกปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5 ppt มีค่าสูงสุด (256±2 mg/g) สูงกว่าปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ปริมาณแคลเซียมลดลงที่ความเค็ม 10 และ15 ppt และมีค่าเพิ่มมากขึ้นอีกเมื่อเลี้ยงปูที่ความเค็มน้ำ 20 และ 25 ppt (ตารางที่ 5 และรูปที่ 15) ส่วนปริมาณของแมกนีเซียมในเปลือกปูทะเลจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น โดยปูที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5-15 ppt มีค่าต่ำสุด และจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเลี้ยงปูที่ความเค็มน้ำ 20 ppt จนพบสูงสุดที่ความเค็มน้ำ 25 ppt (26.7±2.1 mg/g) สูงกว่าปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 5 และรูปที่ 15)

4.2 ฟอสฟอรัส โซเดียม และ ซัลเฟอร์

ปริมาณฟอสฟอรัสในเปลือกปูทะเลจะมีค่าลดลงจากปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5 ppt จนมีค่าต่ำสุดที่ 15 ppt และ เพิ่มสูงขึ้นอีกที่ความเค็ม 20 ppt จนสูงสุดที่ความเค็ม 25 ppt (6.96±0.14 mg/g) โดยมีค่าสูงกว่าปูที่เลี้ยงระดับความเค็มน้ำ 10-20 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 16)

โซเดียมในเปลือกปูทะเลสูงขึ้นจากค่าต่ำสุดที่ความเค็มน้ำ 5 ppt จนมีค่าสูงขึ้นตามความเค็มน้ำที่สูงขึ้นจนพบสูงสุดที่ความเค็มน้ำ 15 ppt (10.9±0.3 mg/g) และมีค่าลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P> 0.05) ที่ความเค็มน้ำ 20 และ 25 ppt (ตารางที่ 4 และรูปที่ 16)

ปริมาณของซัลเฟอร์ในเปลือกปูทะเลพบค่าต่ำสุดที่ความเค็มน้ำ 5 ppt โดยมีค่าสูงมากขึ้นตามความเค็มน้ำที่สูงขึ้นจนพบสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเค็มน้ำ 20 ppt (2.51±0.11 mg/g) (P <0.05) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 16)

4.3 โปตัสเซียม แมงกานีส ทองแดง และคลอรีน

ปริมาณของแมงกานีสและคลอรีนในเปลือกปูทะเลมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเค็มสูงขึ้นจาก 5 ppt จนสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ที่ความเค็มน้ำ 20 ppt และลดลงที่ความเค็ม 25 ppt (ตารางที่ 4 และรูปที่ 17) ขณะที่ปริมาณทองแดงในเปลือกปูเลี้ยงในทุกระดับความเค็มน้ำไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 4 และรูปที่ 17) โปตัสเซียมในเปลือกปูมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ช่วงความเค็มน้ำ 5-20 ppt แต่จะมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่ความเค็มน้ำ 25 ppt (ตารางที่ 4 และรูปที่ 17)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นของแร่ธาตุในพลาสมาปูทะเลที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ

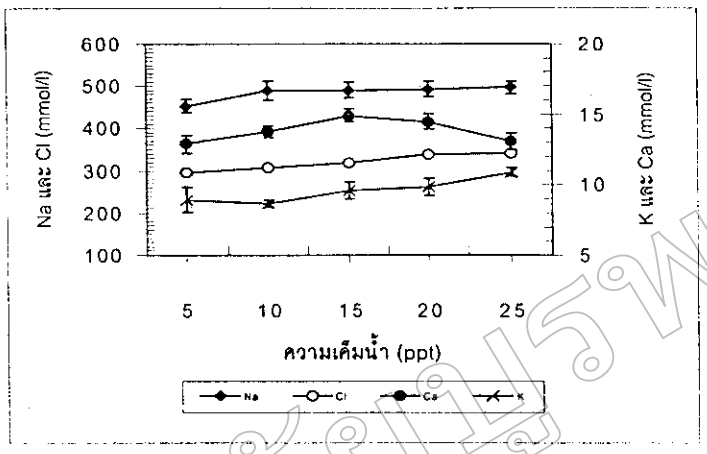
(ppt)	Na	Ca	Mg	K	Cu	Mn	Cl	P	S
					mmol/L				
5	453±15 [a]	12.96±0.64 [b]	23.13±2.38 [b]	8.96±0.86 [b]	4.49±0.32 [b]	0.084±0.019 [a]	295±4 [d]	2.30±0.32 [ab]	33.89±1.36 [b]
10	489±22 [a]	13.83±0.45 [ab]	24.03±1.07 [b]	8.66±0.29 [b]	4.78±0.35 [ab]	0.095±0.030 [a]	308±3 [c]	1.71±0.16 [bc]	34.11±1.34 [b]
15	491±17 [a]	14.87±0.46 [a]	22.41±2.47 [b]	9.63±0.61 [ab]	4.94±0.37 [ab]	0.092±0.038 [a]	318±3 [b]	1.32±0.21 [c]	34.43±0.80 [b]
20	493±19 [a]	14.54±0.57 [ab]	31.92±3.61 [a]	9.83±0.59 [ab]	5.38±0.41 [a]	0.140±0.053 [a]	339±3 [a]	2.56±0.36 [a]	45.90±0.92 [a]
25	496±14 [a]	13.09±0.62 [b]	25.66±3.68 [ab]	10.91±0.29 [a]	4.88±0.37 [ab]	0.114±0.037 [a]	341±3 [a]	2.41±0.25 [ab]	32.81±1.71 [b]

หมายเหตุ Mean ± S.E., n = 6-12

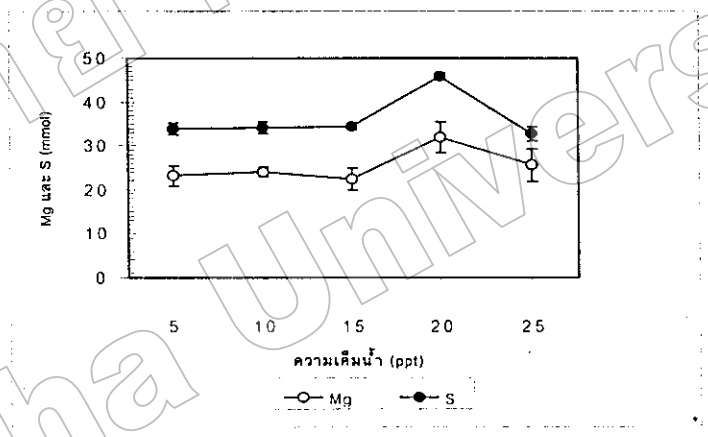
อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

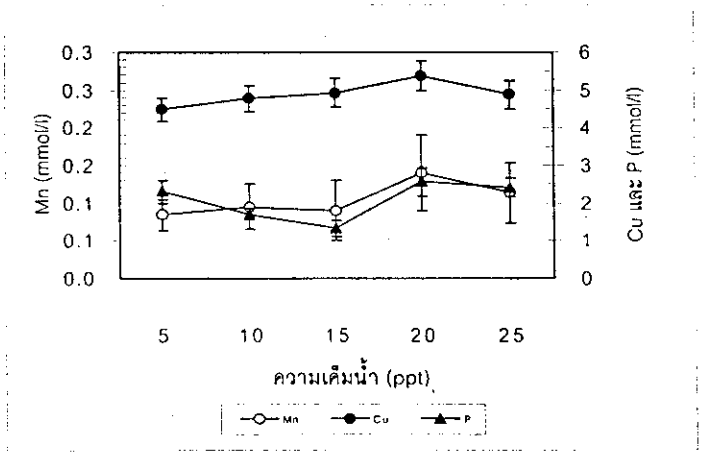
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 12 ความเข้มข้นของแร่ธาตุ Na, Ca, K และ Cl ในเลือดปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ



รูปที่ 13 ความเข้มข้นของแร่ธาตุ Mg และ S ในเลือดปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ



รูปที่ 14 ความเข้มข้นของแร่ธาตุ Mn, Cu และ P ในเลือดปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นของแร่ธาตุในเปลือกปูทะเลที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 5 ระดับ

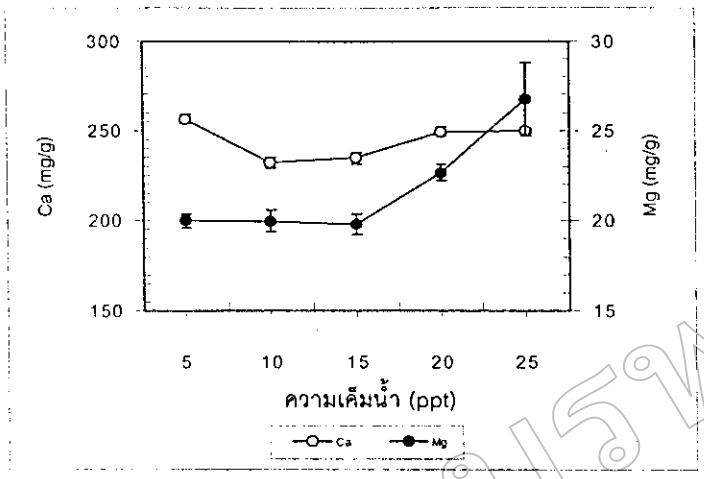
ความเค็มน้ำ (ppt)	Na	Ca	Mg	K	Cu	Mn	Cl	P	S
	mg/g								
5	3.91±0.69 [b]	256±2 [a]	20.0±0.4 [c]	0.013±0.009 [b]	0.072±0.001 [a]	1.47±0.11 [ab]	0.94±0.12 [b]	6.68±0.26 [ab]	1.97±0.07 [c]
10	5.01±0.46 [ab]	232±3 [b]	20.0±0.6 [c]	0.028±0.019 [b]	0.071±0.001 [a]	1.43±0.05 [b]	0.77±0.11 [b]	6.00±0.14 [bc]	2.15±0.08 [b]
15	6.02± 0.99 [a]	235±3 [b]	19.8±0.6 [c]	0.016±0.016 [b]	0.070±0.000 [a]	1.51±0.15 [ab]	0.91±0.09 [b]	5.70±0.20 [c]	2.22±0.08 [b]
20	5.24±0.73 [ab]	249±2 [a]	22.7±0.5 [b]	0.034±0.019 [b]	0.071±0.001 [a]	1.69±0.13 [a]	1.20±0.07 [a]	6.24±0.16 [b]	2.51±0.11 [a]
25	5.18±0.83 [ab]	250±1 [a]	26.7±2.1 [a]	0.362±0.105 [a]	0.072±0.001 [a]	1.41±0.06 [b]	0.91±0.08 [b]	6.96±0.14 [a]	2.30±0.08 [b]

หมายเหตุ Mean ± S.E., n = 10-12

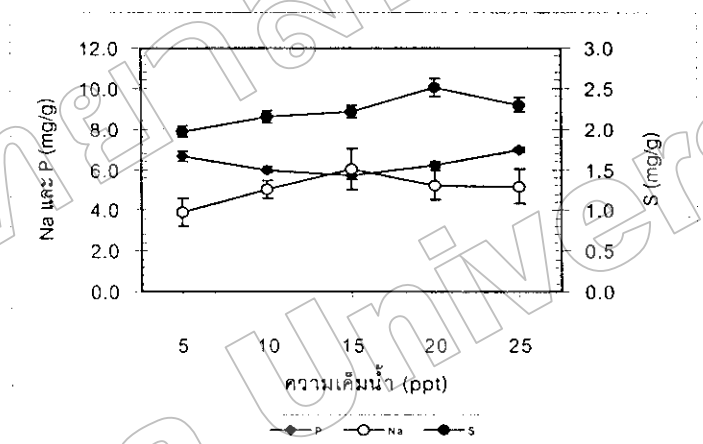
อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P>0.05*)

อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*)

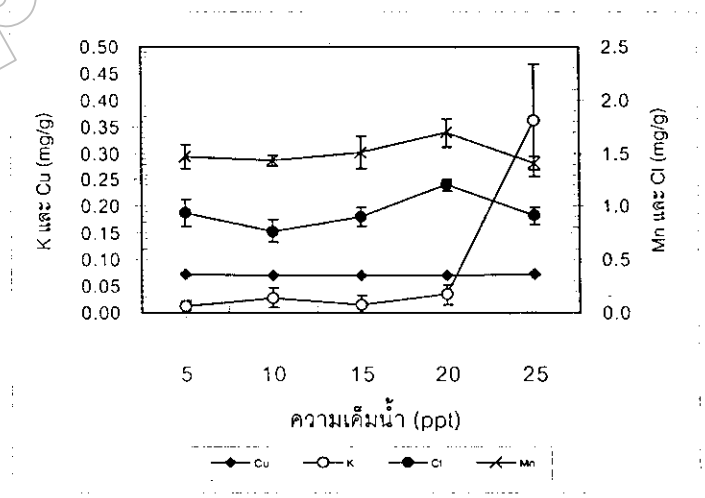
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 15 ความเข้มข้นของแร่ธาตุ Ca และ Mg ในเปลือกปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ



รูปที่ 16 ความเข้มข้นของแร่ธาตุ P, Na และ S ในเปลือกปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ



รูปที่ 17 ความเข้มข้นของแร่ธาตุ K, Mn, Cu และ Cl ในเปลือกปูทะเล ภายใต้ความเค็มน้ำ 5 ระดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 5
อภิปรายผลการทดลอง

1. ระยะเวลาลอกคราบและจำนวนปูที่ลอกคราบ

ระดับความเค็มน้ำเป็นปัจจัยภายนอกที่มีอิทธิพลต่อระยะเวลาในการลอกคราบของปูทะเลกล่าวคือที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt ปูใช้ระยะเวลาในการลอกคราบนานที่สุด ซึ่งสูงกว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 5 และ 15 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่ระดับความเค็มน้ำ 5,10,15 และ20 ppt ใช้ระยะเวลาไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การลอกคราบสะสมแล้วจะพบว่าที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt ปูเริ่มมีการลอกคราบช้าโดยเพิ่งเริ่มลอกคราบเป็นจำนวนมากช่วงวันที่ 55-65 ในขณะที่ระดับความเค็มน้ำ 5,10,15 และ 20 pptการลอกคราบของปูจะมีการลอกคราบอย่างสม่ำเสมอ โดยภาพรวมแล้วที่ระดับความเค็มน้ำที่ต่ำมีแนวโน้มทำให้ปูทะเลใช้ระยะเวลาในการลอกคราบสั้นกว่าที่ระดับความเค็มสูง เช่นเดียวกันกับปู *C. altimanus* ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 3 ppt ระยะลอกคราบ (intermolt) จะสั้นกว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 21 และ 30 ppt (Spivak, 1999)

ปูทะเลจะมีการปรับค่าออสโมลาลิตี้ให้สูงขึ้นเมื่อเข้าสู่สภาวะใกล้ลอกคราบ (stage $D_1 - D_3$) โดยจะมีค่าสูงสุดที่ระยะ D_2 (Pratoomchat et al., 2002a) และลดลงที่ระยะ D_3 เนื่องจากมีการเจือจางด้วยการดึงน้ำเข้าไปภายในตัวหลังจากมีค่าออสโมลาลิตี้ที่สูงในช่วงก่อนหน้านี้ ประกอบกับปูทะเลจะมีพฤติกรรมการปรับตัวแบบ hyperosmoregulation กล่าวคือจะปรับให้ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดสูงกว่าน้ำภายนอกและจะมีความแตกต่างมากขึ้นที่ความเค็มน้ำที่ลดลง สภาวะความต่างดังกล่าวอาจจะเป็นตัวกระตุ้นให้ปูเข้าสู่สภาวะลอกคราบเร็วขึ้นก็ได้ เนื่องจากปูต้องทำการปรับสมดุลความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในเลือดและของเหลวในร่างกายให้สมดุลกับความเข้มข้นของเกลือแร่ในน้ำภายนอก และต้องให้มีความเข้มข้นสูงกว่าแหล่งน้ำภายนอกเพื่อลดการสูญเสียเกลือแร่ออกจากร่างกายด้วยการกำจัดน้ำออกจากร่างกาย อีกทั้งพยายามสร้างความสมดุลเกลือแร่ด้วยการเพิ่มการละลาย (dissolution) จากเปลือกเก่า (old cuticle) ซึ่งมีขบวนการคล้ายในวงจรการลอกคราบของปูทะเลช่วงใกล้ลอกคราบ (Premolt stage) ที่มีปรากฏการณ์นี้ (Pratoomchat *et al.*, 2002a) อาจจะเป็นการส่งสัญญาณกระตุ้นให้ปูมีการเตรียมตัวสร้างเปลือกใหม่ (new cuticle) ก็เป็นได้

ดังรายงานที่กล่าวว่า pH ของเลือดปูโดยทั่วไปจะแปรผกผันกับระดับความเค็มน้ำภายนอก (Truchot, 1981; Henry and Wheatly, 1992) โดยจะมีค่า pH สูงขึ้น (metabolic alkalosis) เมื่อปรับเปลี่ยนความเค็มจากสูงไปต่ำ เช่น ปู *Carcinus maenas* (Taylor, 1977) and *Callinectes sapidus* (Weiland and Mangum, 1975) เนื่องจากมีการละลายไบคาร์บอเนตจากเปลือกเก่า สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในครัสเตเชียนที่เมื่อใกล้ลอกคราบจะเกิดกระบวนการ metabolic alkalosis เช่นกัน หรือการปูทะเลอยู่ในสภาพน้ำทะเลที่เจือจางหรือต่ำส่งผลให้มีเมตาโบลิซึมสูงขึ้นจึงก่อให้เกิด respiratory acidosis (Truchot,

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1983) และยังก่อให้เกิดความแตกต่างของ Na^+-Cl^- เป็นบวก (Henry and Wheatly,1992) อาจจะช่วยสร้างเสริมให้กลไกทางสรีระภายในเซลล์ (intracellular pH) มีการปรับระดับ pH ให้ต่ำลงจากเดิมเพื่อเอื้อต่อการละลายเปลือกเก่า (old cuticle) ก็เป็นได้ ส่งผลให้เกิดการละลายของไบคาร์บอเนตจากเปลือกเก่าจึงทำให้เลือดมีค่า pH สูงขึ้นในที่สุด (Henry and Wheatly, 1992) ซึ่งการเปลี่ยนแปลง pH ที่เกิดขึ้นในเลือดก่อให้เกิดกลไกกระตุ้นการเคลื่อนย้ายอิออนและมีการปรับสภาวะสมดุลของการเคลื่อนย้ายอิออน (Na^+ และ Cl^- กับ H^+ และ HCO_3^-) ระหว่างของเหลวภายนอกเซลล์ (extracellular fluid) กับน้ำภายนอกร่างกาย หรือของเหลวภายในเซลล์ (intracellular fluid) (Mantel and Farmer, 1983; Truchot, 1983) นอกจากนี้ความเค็มที่ต่ำยังส่งผลให้เอนไซม์ Na/K ATPase และ carbonic anhydase ที่เหงือกมีความเข้มข้นสูงขึ้นและมีฤทธิ์มากขึ้นต่อการควบคุมอิออนเพื่อการควบคุมระดับสมดุลเกลือแร่ (Henry and Wheatly,1992) ซึ่งอาจจะเป็นการช่วยกระตุ้นการสร้างเปลือกใหม่ให้เร็วขึ้น จึงส่งผลให้ปูมีการลอกคราบได้เร็วขึ้น

ที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt ปูมีเปอร์เซ็นต์การลอกคราบสูงกว่าปูกลุ่มที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 5,10 และ 25 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) เป็นการชี้ให้เห็นว่าปูมีความสำเร็จในการลอกคราบได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาลูกปูระยะ Crab stage จะสามารถเจริญเติบโตในน้ำทะเลที่มีความเค็มระหว่าง 21- 22 ppt (ชลธี, 2539) อย่างไรก็ดี ถึงแม้ว่าเปอร์เซ็นต์การลอกคราบสะสมแล้วปูที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt ดูเหมือนจะมีเปอร์เซ็นต์สูงอย่างต่อเนื่องถึงวันที่ 65 แต่จำนวนปูที่ลอกคราบสะสมมีค่าต่ำกว่าที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt เป็นการชี้ให้เห็นถึงว่า ระดับความเค็มน้ำที่ต่ำเกินไปหรือสูงเกินไปน่าจะส่งผลกระทบต่อกระบวนการลอกคราบ เนื่องจากปูต้องมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกมากกว่าปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเค็มน้ำต่ำ ปูจะต้องมีการปรับตัวอย่างมากเพื่อให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ถึงแม้ว่าจะได้รับการกระตุ้นเพื่อให้ลอกคราบได้เร็วก็ตาม แต่การที่ปูอยู่ในสภาพที่เครียดและมีการใช้พลังงานสูง อีกทั้งยังต้องปรับสรีระร่างกายมากอาจจะส่งผลต่อความสำเร็จในการลอกคราบของปูชนิดนี้ก็เป็นได้ ตรงกันข้ามปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt ประสบความสำเร็จในการลอกคราบ 100 % ถึงแม้ว่าจะมีระยะเวลาในการลอกคราบนานกว่าก็ตาม เนื่องจากปูจะมีการปรับตัวทางสรีระต่ำ จึงมีส่วนส่งเสริมให้ปูมีวิถีชีวิตปกติไม่เครียด ความสำเร็จในการลอกคราบจึงสูงไปด้วย

2. ขนาดของปูทะเลหลังการลอกคราบ

จากผลการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การเพิ่มของขนาดกระดองของปูทะเลภายหลังการลอกคราบมีขนาดเพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P>0.05*) โดยปูที่เลี้ยงมีอัตราส่วนเพิ่มขึ้น 12 –15% แต่มีแนวโน้มว่าที่ความเค็มสูงขึ้นปูมีแนวโน้มความกว้างของกระดองเพิ่มขึ้นทั้งนี้อาจจะเป็นข้อเปรียบเวลาปูทะเลที่อยู่ในที่ความเค็มสูงนั้นอาจจะมีโอกาสได้รับแร่ธาตุจากน้ำภายนอกได้มากกว่าในระดับน้ำความเค็มต่ำ เนื่องจากมีความเข้มข้นของแร่ธาตุหลายชนิดสูงกว่า จึงมีโอกาสที่จะดึงแร่ธาตุเพื่อนำไปใช้ในการสร้างเปลือก (calcification) ให้มีขนาดหรือความแข็งหรือสมบูรณ์จึงมีมากกว่า ดังรายงานการการศึกษาในปู *Callinectes sapidus* ที่พบว่าขนาดของปูหลังลอกคราบที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำอาจจะมี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขนาดเล็กกว่า เนื่องจากปูที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำจะสูญเสียพลังงานเพื่อการป้องกันไม่ให้เลือดเจือจางจึงต้องการปริมาณออกซิเจนมาก (deFur, 1990)

3. การตายของปูก่อนลอกคราบ

เปอร์เซ็นต์การตายระหว่างทำการเลี้ยงปูที่เลี้ยงความเค็มทั้ง 5 ระดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามอัตราการตายของปูที่ระดับความเค็มน้ำ 5 pptมีแนวโน้มสูง การตายลดลงเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้นจนถึงความเค็มน้ำ 20 ppt และจะเริ่มมีการตายสูงปรากฏขึ้นอีกที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt ทั้งนี้อาจจะเป็นไปได้ว่าที่ความเค็มน้ำต่ำปูทะเลจะต้องมีการปรับสมดุลเกลือแร่ในร่างกายมาก ดังที่ทราบมาแล้วว่าค่าความแตกต่างออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูและสิ่งแวดล้อมภายนอกจะสูงมากขึ้นเมื่อความเค็มน้ำต่ำลง สภาวะการณ์ดังกล่าวอาจจะส่งผลให้ปูมีความเครียดและมีความเครียดสูงมากขึ้นเมื่อความเค็มน้ำภายนอกต่ำเกินไป ซึ่งคาดการณ์ได้ว่าหากระดับความเค็มน้ำต่ำกว่าระดับความเค็มน้ำ 5 pptนี้น่าจะทำให้ปูตายมากขึ้นเนื่องสูญเสียระบบสมดุลเกลือแร่ และหากสูงกว่าระดับความเค็มน้ำ 25 pptก็ไม่ส่งผลดีเช่นกัน

4. การตายคาคราบของปูทะเล

เปอร์เซ็นต์การตายคาคราบของปูนั้น เริ่มจากมีการตายคาคราบสูงที่ความเค็ม 5 ppt และลดลงเมื่อความเค็มสูงขึ้นจนไม่พบเลยที่ความเค็ม 15 ppt จนกระทั่งตายมากขึ้นเมื่อความเค็มที่เลี้ยงเป็น 25 ppt การที่ปูมีอัตราการตายลักษณะดังกล่าวสูงนั้นน่าจะมีสาเหตุจากสภาพความเค็มที่สูงหรือต่ำเกินไปไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตโดยมีผลโดยตรงต่อระบบสรีระของสัตว์ โดยทั่วไปแล้วปูทะเลต้องมีการปรับออสโมลาลิตี้ให้สูงขึ้นเมื่อเทียบกับน้ำภายนอกขณะที่ปูใกล้ลอกคราบ เมื่อน้ำภายนอกมีความเค็มสูงขึ้นนั้นก็จะมีค่าออสโมลาลิตี้สูงตามไปด้วย ทำให้ปูต้องมีการปรับตัวให้มีระดับออสโมลาลิตี้ภายในสูงกว่าน้ำภายนอกมากขึ้นไปอีกจนได้สัดส่วนเดิม เพื่อการดึงน้ำเข้าไปภายในตัวเมื่อใกล้ลอกคราบ และสร้างค่า hydrostatic pressure ส่งผลให้ปูที่เลี้ยงที่ความเค็มสูงมีการลอกคราบไม่สำเร็จและตายคาคราบในที่สุด ขณะที่ปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำต่ำกว่า 25 pptนั้น การปรับค่าออสโมลาลิตี้ให้สูงกว่าน้ำภายนอกดูเหมือนว่าจะเป็นไปได้ง่ายกว่า จึงประสบความสำเร็จในการลอกคราบได้ดีกว่า ทั้งนี้ยกเว้นที่ความเค็มต่ำเกินไป (5 ppt)

5. การตายของปูทะเลหลังลอกคราบ

จากผลการทดลองเปอร์เซ็นต์การตายหลังลอกคราบของปูที่มีการลอกคราบแล้วพบว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt มีเปอร์เซ็นต์การตายหลังลอกคราบสูงกว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 15,20 และ 25 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) การตายเริ่มสูงที่ความเค็ม 5 ppt และลดลงเมื่อความเค็มสูงขึ้นจนไม่พบเลยที่ความเค็ม 20 ppt เนื่องมาจากปูเมื่อลอกคราบใหม่ๆ จะพยายามดึงน้ำออกจากตัวและพยายามเก็บรักษาเกลือแร่ไว้ในร่างกายให้มากที่สุด แต่ที่ความเค็มต่ำความแตกต่างของความเข้มข้นของ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

น้ำภายนอกกับความเข้มข้นภายในตัวปูแตกต่างกันน้อย การกำจัดน้ำออกจากตัวจึงใช้เวลานานและใช้พลังงานมากทำให้ปูเกิดความเครียดและมีความอ่อนแอ ประกอบกับเมื่อลอกคราบใหม่ๆจะเคลื่อนไหวได้น้อยและเปลือกนิ่ม ทำให้ปูตัวอื่นที่ยังไม่ลอกคราบมากินเป็นอาหาร

6. ระยะการลอกคราบของปูเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

จากการตรวจสอบระยะการลอกคราบของปูภายหลังเสร็จสิ้นการทดลองพบว่าปูที่ยังไม่ลอกคราบ (8-19%) ของทุกระดับความเค็มมีระยะการลอกคราบอยู่ในระยะก่อนลอกคราบ (mid premolt, D_2) ทุกตัวโดยพบว่าปูที่เหลือจากการลอกคราบทุกตัวไม่มีการงอกใหม่ "autonomy" ของรยางค์ที่สูญเสียไปแต่อย่างใด ทั้งนี้อาจจะเป็นปัญหาจากสุขภาพของปูเองหรือจากความเครียด

7 ออสโมลาลิตี้

ระดับความเค็มน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปูทะเลแต่ละระดับมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ในเลือดปูทะเล โดยที่ในระดับความเค็มน้ำ 5, 10, 15, 20 และ 25 ppt ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดแสดงภาวะ hyperosmoregulation กล่าวคือค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดภายในตัวปูทะเลมีค่าสูงกว่าค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำทะเลภายนอก จนกระทั่งในระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดมีค่าเท่ากับค่าออสโมลาสลิตี้ของน้ำทะเล แสดงภาวะ isosmotic และในที่ระดับความเค็มน้ำ 35 และ 40 ppt ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดจะแสดงภาวะ hyposmoregulation กล่าวได้ว่าปูทะเล (*S. serrata*) มีพฤติกรรมการปรับตัวแบบ "moderate hyper- and hyporegulator" มีความสามารถปานกลางในการปรับระดับค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดให้มีค่าสูงหรือต่ำกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอกเมื่อมีสิ่งแวดล้อมภายนอกมีความเค็มเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งมักจะพบในสัตว์ที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำกร่อย มีพฤติกรรมคล้ายคลึงกันกับปู *Carcinus maenas* (Gilles และ Pequeux,1981) ปู *Pachygrapsus crassipes, Hemigrapsus edwardsi, Mictyris longicarpus* และ *Uca crenulata* (Mantel และ Farmer, 1983) ด้วยกลไกลด-เพิ่มการแพร่ผ่านเข้าออกของน้ำและเกลือแร่โดยการลดหรือเพิ่มพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับน้ำและเกลือแร่ภายนอก ลดการแลกเปลี่ยนของสารที่ผ่านเข้า-ออกบริเวณผิวสัมผัส

จากการทดลองพบว่าภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลมีค่าต่ำสุดและต่ำกว่าที่ระดับความเค็มน้ำระดับอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) มีความต่างระหว่างค่าออสโมลาลิตี้ภายในเลือดปูทะลและน้ำทะเลภายนอกสูงมาก ปูทะเลต้องมีการปรับตัวอยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายสูงกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอกเกือบ 3 เท่าตัว เพื่อลดการสูญเสียและรักษาระดับความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายให้อยู่ในระดับที่มีความสมดุล จึงต้องมีการใช้พลังงานอย่างมากในการรักษาระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุทั้งอินทรีย์สารและอนินทรีย์สารหรือระดับของออสโมลาลิตี้ไว้ให้ได้มากที่สุด โดยมีกลไกการขับน้ำออกจากร่างกายเพราะน้ำภายนอกที่มีความเจือจางจะพยายามเข้าไปในร่างกายตามหลักการของออสโมซิส (osmosis) และในขณะเดียวกันจะมีการดูดกลับเกลือแร่ไว้ภายในร่าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กายเป็นการรักษาระดับความเข้มข้น (Potts และ Parry, 1964) อาจมีการลดขนาดของเยื่อเลือกผ่านให้มีขนาดเล็กลงและเพิ่มการเก็บสะสมปัสสาวะ (Mantel และ Farmer, 1983) ดังนั้นเมื่อปูทะเลอาศัยในน้ำที่มีระดับความเค็มต่ำจึงต้องพยายามรักษาระดับออสโมลาลิตี้เอาไว้ ทำให้ต้องใช้พลังงานมากในการรับน้ำจากภายนอกและดึงแร่ธาตุไอออนต่างๆ กลับเข้าสู่ภายในตัว (deFur, 1990) เพื่อป้องกันการสูญเสียเกลือแร่และการดูดกลับน้ำทะเลจำเป็นต้องใช้พลังงาน อาจจะมีผลดีสำหรับปูทะเลที่อยู่ในสภาวะใกล้ลอกคราบ (stage D_1-D_3) ซึ่งระยะดังกล่าวนี้ปูทะเลจะมีการกินอาหารลดลง แต่ไปเพิ่มการดึงสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ต่างๆ จากเปลือกเก่าเข้าสู่เลือดและอวัยวะภายในอื่นๆ เพื่อเป็นการช่วยเพิ่มระดับออสโมลาลิตี้ภายในเลือดที่เรียกว่า colloid osmotic pressure (Mangum และ Johansen, 1975; Prtoomchat et al., 2002a) จึงเปรียบเสมือนไปช่วยกระตุ้นการลอกคราบ ส่งผลให้มีวงจรการลอกคราบที่สั้นกว่าในที่มีความเค็มสูง นอกจากนี้แคลเซียมและแมกนีเซียมจะแพร่เข้าสู่ภายในร่างกายทำให้ช่วงระยะนี้มีค่าออสโมลาลิตี้สูงกว่าระยะอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะ premolt (D_3) (Mantel และ Farmer, 1983) โดยสภาวะดังกล่าวเป็นการสร้าง osmotic pressure ภายในร่างกายให้มีค่าสูงขึ้นมากกว่าระยะหลังการลอกคราบและระยะคราบแข็ง (Pratoomchat *et al.*, 2002a) เปลือกจึงมีการขยายตัวอย่างมากทำให้ขนาดของเยื่อเลือกผ่านมีขนาดกว้างขึ้นเป็นผลให้น้ำทะเลภายนอกแพร่ผ่านเข้าสู่ภายในตัวปริมาณมาก (Passano, 1960) เป็นการสร้าง hydrostatic pressure เพื่อดันคราบเก่าออกไป อย่างไรก็ดีที่สภาวะความเค็มต่ำนี้ปูทะเลมีการสร้างเนื้อและเปลือกไม่ดีนักหลังลอกคราบ จึงเสี่ยงต่อการดำรงชีวิต เนื่องจากสูญเสียพลังงานมาใช้ในการปรับสภาพทางสรีรเคมีมาก และเกิดความเครียดในการปรับระดับสมดุลเกลือแร่ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตลดลงและอาจทำให้อัตราการตายเพิ่มขึ้นได้ สอดคล้องกับกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยความเค็มต่ำ ๆ จะมีการสร้างคราบแข็งที่ช้า ดังจะเห็นได้จากกระบวนการรักษาสมดุลแคลเซียมในร่างกายกุ้งให้มีปริมาณแคลเซียมที่สูงกว่าน้ำภายนอก ดังนั้นกุ้งที่อาศัยอยู่ในน้ำที่มีความเค็มต่ำต้องปรับระดับสมดุลแคลเซียมในร่างกายให้ต่ำลง แต่ยังอยู่ในระดับที่มากกว่าแคลเซียมที่มีอยู่ในน้ำภายนอก เมื่อปริมาณแคลเซียมที่รับจากภายนอกไม่เพียงพอที่จะรักษาความเข้มข้นของแคลเซียมภายในร่างกายให้สูงกว่าภายนอกได้กุ้งจึงดึงแคลเซียมที่มีอยู่ในเปลือกและคราบมาใช้ ส่งผลให้ปริมาณแคลเซียมจากเลือดหรืออวัยวะต่างๆ ที่สะสมอยู่นำไปใช้ได้ลดลงมีผลทำให้เปลือกแข็งช้า ไม่แข็งแรงและไม่สมบูรณ์เกิดลักษณะเปลือกบางนิ่ม (thinning) (สุริยะ, 2540) จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้ปริมาณแคลเซียมในเนื้อ เปลือกและคราบของกุ้งมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเค็มของน้ำสูงขึ้น

เมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้นทุก 5 ppt จนถึงระดับความเค็มน้ำ 25 ppt ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลมีค่าสูงขึ้นตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้นและยังคงมีค่าสูงกว่าค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำทะเลโดยตลอด (hyperosmoregulation) มีกระบวนการปรับตัวคล้ายกับปู *Emerita talpoida* (Bursey และ Bonner, 1977) และ ปู *C. sapidus* จะมีค่าสัดส่วนเพิ่มขึ้นเมื่อปูมีการอพยพไปสู่ที่ที่มีระดับความเค็มน้ำต่ำๆ (Mantel, 1967; deFur 1990) โดยภาพรวมแล้วพฤติกรรมนี้สามารถจัดปูทะเลอยู่ในกลุ่มครัสเตเชียที่อาศัยในเขตน้ำกร่อยและน้ำทะเลซึ่งเมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้นค่าสัดส่วนหรือความต่างออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลจะมีค่าลดลงเรื่อยๆ (Mantel และ Farmer, 1983) จนกระทั่งค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลและน้ำ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ทะเลจะมีค่าใกล้เคียงกันที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt เมื่อพิจารณาจากระดับสัดส่วนหรือความต่างของค่าออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลภายนอกแล้ว ที่ระดับความเค็มน้ำ 20- < 30 ppt น่าจะเป็นระดับความเค็มน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและเพื่อการเจริญเติบโตในระยะหลังลอกคราบและระยะคราบแข็ง เนื่องจากใช้พลังงานน้อยลงเพื่อการปรับตัวเกี่ยวกับสมดุลเกลือแร่ระหว่างภายในกับภายนอกร่างกาย ไม่เกิดความเครียด สามารถรับแร่ธาตุต่างๆ ได้จากน้ำทะเลภายนอกได้มาก จึงน่าจะมีผลทำให้ปูทะเลมีการเตรียมตัวที่ดีก่อนที่จะเข้าสู่สภาวะก่อนลอกคราบ ทำนองเดียวกันกับกุ้งทะเลจะมีค่า isosmotic อยู่ในช่วง 20-30 ppt (Cheng และ Liao, 1986 อ้างโดย ดาริน, 2531) สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในตัวกลางที่เป็น isosmotic กับของเหลวในร่างกาย และจากการทดลองของ สุขจิรา (2541) พบว่า ระดับความเค็มน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้งแชบ๊วยวัยรุ่นอยู่ในช่วง 30 ppt ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Staples และ Heales (1991) ซึ่งกล่าวว่าค่าความเค็มที่สูงกว่าและต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของกุ้งทำให้กุ้งมีช่วงระยะเวลาการลอกคราบเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ 1 วัน และที่ระดับความเค็ม 30 pptและ อุณหภูมิ 31 ^{o}C กุ้งจะมีการเจริญเติบโตทางด้านน้ำหนักและความยาวเปลือกคลุมหัว (carapace length) สูงสุด

แต่เมื่อทำการเลี้ยงปูทะเลในระดับความเค็มน้ำที่สูงกว่า 30 ppt พบว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดจะมีค่าต่ำกว่าค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำทะเลเล็กน้อย เป็นการแสดงภาวะ hyposmoregulation โดยเมื่อสิ่งมีชีวิตอาศัยอยู่ในน้ำที่มีความเค็มสูงจะมีการปรับตัวโดยทำให้ของเหลวภายในร่างกายมีความเข้มข้นที่ต่ำกว่าภายนอก เพราะที่ระดับความเค็มสูงๆ เกลือแร่จะแพร่เข้าสู่ร่างกายโดยมาพร้อมกับน้ำในปริมาณที่มาก ดังนั้นสิ่งมีชีวิตจึงต้องมีการปรับให้ภายในตัวมีความเข้มข้นที่น้อยลง โดยการขับเกลือแร่ออกและรักษาน้ำไว้ให้ได้มากที่สุด (Mantel และ Farmer, 1983) การเลี้ยงปูทะเลในระดับความเค็มน้ำที่สูงกว่า 30 ppt จะต้องมีการดึงพลังงานมาใช้ในการปรับสมดุลและใช้ในการเจริญเติบโตจึงไม่น่าจะเหมาะสมต่อการเลี้ยงปูทะเล เนื่องจากปูทะเลต้องใช้พลังงานมากเช่นเดียวกันในการปรับสมดุลภายในร่างกายให้อยู่ในภาวะ hyposmotic ซึ่งก่อให้เกิดสภาวะเครียดและอาจทำให้ปูมีความอ่อนแอ ระยะเวลาการลอกคราบผิดปกติไป

7 โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสมิโนไกลแคน

ระดับความเค็มน้ำภายนอกมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไกลโคสมิโนไกลแคนในเลือดของปูทะเล (*S. serrata*) สอดคล้องกับครัสเตเชียนหลายชนิด (Siebers *et. al.*, 1972; Pequeux *et al.*, 1979) ซึ่งอาจจะมีความเปลี่ยนแปลงแบบแปรผันตามกันหรือแปรผกผันระหว่างกันก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของครัสเตเชียนและคุณลักษณะเฉพาะตัวของการปรับสภาพสมดุลเกลือแร่ (osmoregulation system) ของสัตว์ชนิดนั้นๆ

จากผลการทดลองพบว่าระดับของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในเลือดของปูทะเลมีระดับลดน้อยลงเมื่อระดับความเค็มของน้ำภายนอกลดลงนั้นอาจจะมีสาเหตุมาจากหลายสาเหตุที่อาจจะส่งผลต่อระดับการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันไปแล้วแต่ว่าปัจจัยใดจะมีอิทธิพลมากน้อยกว่ากัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ในสภาวะที่ความเค็มน้ำภายนอกต่ำ จะทำให้น้ำภายนอกที่มีความเจือจางแพร่เข้าสู่ร่างกาย และสารต่าง ๆ ในร่างกายก็จะแพร่ออกสู่น้ำภายนอก เพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายให้อยู่ในระดับที่มีความสมดุล ปูทะเลจึงต้องมีการปรับตัวให้อยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายสูงกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอก จึงต้องมีการดึงพลังงานมาใช้อย่างมากในการรักษาความเข้มข้นของแร่ธาตุต่าง ๆ โดยมีกลไกการขับน้ำออกจากร่างกาย เพราะน้ำภายนอกที่มีความเจือจางจะแพร่เข้าไปในร่างกายอยู่ตลอดเวลา ตามหลักการออสโมซีส (osmosis) ในขณะเดียวกันก็จะมีการดูดกลับเกลือแร่ไว้ภายในร่างกายและลดการสูญเสียเกลือแร่ออกจากร่างกาย โดยการลดขนาดของเนื้อเยื่อเลือกผ่านให้เล็กลงและเพิ่มการเก็บสะสมปัสสาวะซึ่งมีแร่ธาตุและสารต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบให้มีปริมาตรคงที่ และปรับระดับแรงดันน้ำภายในร่างกายให้อยู่ในสภาวะปกติ (Mantel และ Farmer, 1983) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าปูทะเลจะมีกลไกต่าง ๆ ในการปรับสมดุลเกลือแร่ดังที่กล่าวมา แต่ภายใต้สภาวะความเค็มน้ำต่ำมาก ๆ ปูทะเลก็ยังต้องสูญเสียสารต่าง ๆ ภายในร่างกายออกสู่สิ่งแวดล้อม และต้องรับน้ำภายนอกจากการแพร่เข้ามาอยู่ตลอดเวลา ถึงแม้ว่าสัตว์อาจจะมีกลไกขับกรดอะมิโน (amino acid) ออกนอกเซลล์หรือการสูญเสียจากเซลล์เข้ามาเก็บในเลือดอยู่ในรูปของโปรตีนหรือมีการสลาย (dissolution) ของสารอินทรีย์และอนินทรีย์จากเปลือกเก่าเข้าสู่กระแสเลือด เพื่อเป็นการช่วยเพิ่มระดับออสโมลาลิตี้ภายในเลือดที่เรียกว่า colloid osmotic pressure (Mangum และ Johansen, 1975) ก็ตาม ทำให้ปูทะเลมีการปรับตัวอย่างมากเพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายให้มีความสมดุลซึ่งต้องใช้พลังงาน โดยเห็นได้ชัดเจนจากกิจกรรมและความเข้มข้นเอนไซม์หลายชนิด เช่น carbonic anhydrase และ ion-activated ATPase ภายในเหงือกจะเพิ่มสูงมากขึ้น (Towle *et al.*, 1976 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) จึงเป็นเหตุให้ปูมีปริมาณของสารต่าง ๆ รวมทั้งโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคน ในเลือดต่ำกว่าในปูที่เลี้ยงความเค็มสูงขึ้นแต่ไม่เกิน 30 ppt เป็นที่ทราบแล้วว่ากลูโคสเป็นสารตั้งต้น (precursor) ในการสังเคราะห์ไกลโคสอะมิโนไกลแคน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของกลูโคสหรือคาร์โบไฮเดรตจึงมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคนด้วย

สัตว์หลายชนิดมีระดับโปรตีนและออสโมลาลิตี้มีความสัมพันธ์กัน เช่น *Uca minax*, *Ocypode quadrata* และ *E. sinensis* (Gilles, 1977) ซึ่งเป็นกลุ่ม semiterrestrial ความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้อาจจะมีความจำเป็นสำหรับสัตว์บางชนิดเพื่อเพิ่มจำนวนของประจุลบเพื่อไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้วยการแพร่ในของเหลวภายนอกเซลล์ เป็นการช่วยลดการบวมเนื่องจากความดันที่เนื้อเยื่อหรือเป็นการปรับสมดุลระหว่าง hydrostatic pressure และ colloidal osmotic pressure รวมถึงการประหยัดน้ำที่จะต้องขับออกทางเหงือกหรือระบบขับถ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพวกครัสเตเชียน กลุ่ม semiterrestrial (Gilles และ Pequeux, 1983) หรือการเพิ่มขึ้นของโปรตีนนั้นสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ haemocyanin และปริมาณทองแดง (copper) เนื่องจากสัตว์จำเป็นต้องมีการใช้ออกซิเจนสูงปริมาณที่สูงขึ้น (oxygen consumption) เพราะสัตว์โดยทั่วไปแล้วจะมีอัตราการหายใจสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่น้ำภายนอกมีการเจือจางลง โดยไม่มีความสัมพันธ์กับการลำเลียงโซเดียมอิออน (Na^+) เพื่อปรับระดับออสโมลาลิตี้ โปรตีนในเลือดจะสูง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขึ้นเพื่อสนับสนุนกิจกรรมดังกล่าวขณะที่ให้ผลตรงกันข้ามกับ *Libinia marginata* ที่เป็นกลุ่ม stenohaline คือระดับโปรตีนจะลดลง (Pequeux *et al.*, 1979) ซึ่งสามารถพบได้ในสัตว์อีกหลายชนิดทั้งในกลุ่ม euryhaline และ semiterrestrial ที่ระดับออสโมลาลิตี้และโปรตีนในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กัน

ปูทะเลของการทดลองนี้มีระดับโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตแปรผันตามค่าของออสโมลาลิตี้ และมีค่าแปรผันตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น (5-25 ppt) ปูที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำต้องมีการใช้พลังงานเพื่อปรับสภาพความสมดุลเกลือแร่อย่างมากเมื่อความเค็มน้ำภายนอกมีระดับต่ำหรือสูงเกินไป (osmotic stress) จึงส่งผลให้มีกิจกรรมการใช้พลังงานและมีการขับถ่ายของเสียซึ่งอยู่ในรูป NH_3 ซึ่งพบในครัสเตเซีย euryhaline หลายชนิด (Mangum *et al.*, 1976) ซึ่งเป็นผลมาจากการ deamination ทำให้ระดับ NH_3 มีค่าสูงขึ้นในเลือดเช่นปู *C. sapidus* (Mangum *et al.*, 1976) หรือในกล้ามเนื้อของปู *Eriocheir sinensis* (Vincent-Marigue และ Gilles, 1970) แล้วสัตว์ก็จะต้องสูญเสียหรือขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะต่อไป เหตุการณ์ดังกล่าวคาดว่าน่าจะเกิดขึ้นกับปูทะเลด้วยเช่นเดียวกันและอาจเป็นปัจจัยเสริมประการหนึ่งอันส่งผลให้ปูมีระดับโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสมิโนไกลแคนลดน้อยลง

นอกจากนี้สัตว์ยังต้องทำการปรับระบบสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายในสภาวะความเค็มน้ำต่ำด้วยการดึง Na^+ และ Cl^- เข้าสู่ร่างกาย (active uptake) ผ่านทางเหงือกขณะเดียวกันสัตว์ก็ต้องสูญเสีย NH_4^+ หรือ H^+ ภายในเลือดด้วย และการนำเอา Na^+ และ Cl^- เข้ามาในขบวนการ oxidation กรดอะมิโนที่เหงือกนั้นมีความสำคัญอย่างมากในแง่พลังงานสำหรับการแลกเปลี่ยนดังกล่าว (Gilles และ Pequeux, 1983) ก็อาจเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ความเข้มข้นโปรตีนลดลงเช่นกัน เมื่อ H^+ ในเลือดลดน้อยลงก็ย่อมส่งผลให้ระดับ pH ในเลือดสูงขึ้น ผลที่ตามมาก็คือแร่ธาตุที่มีประจุลบหรือบวกจะมีโอกาสจับตัวได้ดีขึ้น (precipitation) ในการรวมตัวเป็นสารประกอบเพื่อทำการสร้างเปลือกใหม่ เพราะเป็นช่วงที่ปูเข้าสู่ระยะก่อนลอกคราบ (premolt stage, D1) ปัจจัยดังกล่าวเป็นการเอื้ออำนวยต่อการสร้างเปลือกใหม่ เพราะการสร้างเปลือกของสัตว์ครัสเตเซียนทั่วไปจะเป็นไปได้ดีในสภาวะที่เป็นด่างเล็กน้อยโดยการนำเอาโปรตีน-คาร์โบไฮเดรตไปใช้ในการสร้างเปลือกใหม่ (sclerotinization) ที่ยังคงเป็นชั้นของ epicuticle ในระยะ D1 และจะมีการนำสารอินทรีย์ดังกล่าวมาร่วมกับแคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อการสร้างเปลือกต่อไป (calcification) ในระยะก่อนลอกคราบ (stage D2-D3) (Pratoomchat *et al.*, 2002a) จึงส่งผลให้ระดับโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตลดน้อยลงก็เป็นไปได้ ถ้าเหตุการณ์เป็นอย่างนี้จริงปูที่ระดับความเค็มน้ำต่ำอาจจะมีการกระตุ้นให้ปูทะเลมีสร้างเปลือกใหม่ได้ดีกว่า ส่งผลให้ปูมีการลอกคราบเร็วกว่า อย่างไรก็ดีการที่น้ำมีความเค็มต่ำมากไปนั้นอาจจะส่งผลให้ปูมีความเครียดสูงและต้องสูญเสียพลังงานในการปรับสภาพทางสรีรเคมีมากกว่าที่จะนำไปสร้างเปลือกใหม่ก็ได้ อาจจะทำให้ปูต้องมีการบริโภคอาหารมากขึ้นขณะที่มีการขับถ่ายของเสียมากขึ้น ถึงแม้ว่าปูที่เลี้ยงในที่มีความเค็มต่ำจะมีโอกาสลอกคราบเร็วด้วยเหตุผลที่สนับสนุนต่างๆ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

โดยทั่วไปแล้วระดับ pH ในเลือดของครัสเตเชียนจะแปรผกผันกับความเค็มน้ำ คือ เมื่อความเค็มน้ำลดลงจะทำให้ค่า pH ของเลือดสูงขึ้น (Weiland และ Mangum, 1975; Truchot, 1981; Henry และ Cameron, 1982) ดังนั้นค่าของ pH จะสูงขึ้น เมื่อความเค็มน้ำลดลง เป็นผลเนื่องมาจากการละลายของแร่ธาตุจากเปลือกเก่า (dissolution) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง HCO_3^- เข้ามาสู่ระบบเลือด เพื่อมาสร้างสมดุลของแร่ธาตุที่สูญเสียไปและสร้างสมดุลระดับ pH และพยายามลดการสูญเสียด้วยการขับน้ำออกจากร่างกายหรือลดความสามารถในการแพร่เข้าออกของเมมเบรน (permeability) ที่เกิดขึ้นที่คิวติเคิล (Capen, 1972) รวมถึงแร่ธาตุที่มีประจุลบหรือบวกจะมีโอกาสจับตัวได้ดีขึ้น (precipitation) ที่ pH สูงขึ้น (Pratoomchat et al., 2002a) ในการรวมตัวเป็นสารประกอบเพื่อทำการสร้างเปลือกใหม่ เนื่องจากเป็นช่วงที่ปูเข้าสู่ระยะใกล้ลอกคราบ (premolt stage) ซึ่งการสร้างเปลือกของครัสเตเชียนทั่วไปจะเป็นไปได้ดีในสภาวะที่เป็นด่างเล็กน้อย ด้วยการนำเอาโปรตีน-คาร์โบไฮเดรตไปใช้ในการสร้างเปลือกใหม่ (sclerotinization) ที่ยังเป็นชั้นของ epicuticle ในระยะก่อนลอกคราบตอนต้น (stage D1) ซึ่งเป็นระยะลอกคราบที่พบในการทดลองนี้ โดยไกลโคสอะมิโนไกลแคน เป็นตัวสำคัญที่เหนี่ยวนำให้เกิดการตกผลึกของแคลเซียมเพื่อการสร้างเปลือกใหม่ (calcification) ในระยะต่อจากนี้ ระยะก่อนลอกคราบ (stage D3) และระหว่างลอกคราบ (Greenfield *et al.*, 1984; Pratoomchat et al., 2002a) จึงส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคนลดน้อยลงก็เป็นได้ หรือในสภาพดังกล่าว ความเค็มน้ำที่สูงนั้นได้เป็นสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการสร้างเปลือกมากกว่าการสลายเปลือกเก่า จึงมีการเตรียมไกลโคสอะมิโนไกลแคนให้สูงขึ้นในเลือดเพื่อทำการสร้างเปลือกต่อไป ถ้าเป็นอย่างนี้จริงที่ระดับความเค็มสูงจะส่งผลให้ปูมีการลอกคราบช้าลงเนื่องจากปัจจัยที่ไม่ส่งเสริมการกระตุ้นการลอกคราบแต่อย่างใด เป็นไปตามรายงานที่พบว่าปูทะเลจะมีการลอกคราบเร็วขึ้น เมื่อความเค็มลดลง จึงพอวิจารณ์ได้ว่า หากต้องการให้ปูมีการสร้างเปลือกอย่างต่อเนื่องและเป็นอย่างดี ควรที่จะเลี้ยงปูที่ความเค็มสูง 20-25 ppt แล้วหากต้องการให้ปูมีการลอกคราบเร็วขึ้นก็ควรที่จะลดความเค็มน้ำลงต่ำกว่า 10 ppt แต่ไม่ควรต่ำไปกว่า 5 ppt เพราะจะทำให้ปูทะเลเกิดความเครียดสูงมากเกินไป และจะทำให้มีอัตราการรอดตายต่ำได้จากความเครียด

8 ปริมาณของธาตุโซเดียม โปแตสเซียม และคลอรีน

จากผลการทดลองพบว่าระดับความเค็มน้ำภายนอกมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของธาตุโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียมในพลาสมาปูทะเล โดยที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt ปริมาณของธาตุโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียม มีความเข้มข้นต่ำที่สุด และจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้น จนธาตุทั้ง 3 ชนิดมีความเข้มข้นสูงสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt ถึงแม้ว่าธาตุโซเดียมจะมีค่าเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าปริมาณของธาตุโซเดียมมีค่าความเข้มข้นสูงที่สุดทุกระดับความเค็มน้ำเมื่อเปรียบเทียบกับธาตุอื่นๆ คลอรีน และโปแตสเซียมมีค่ารองลงมาตามลำดับ ซึ่งปริมาณรวมของธาตุทั้ง 3 นี้มีมากกว่า 90% ของแร่ธาตุทั้งหมดในเลือด จึงจัดได้ว่าเป็นตัวรักษาสมดุลออสโมติกของเลือด (osmoregulator) กล่าวคือ ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ธาตุโซเดียม คลอรีน และ โปแตสเซียม ก็จะส่งผลให้ค่าออสโมลาลิตี้ (osmolality) ของเลือดเปลี่ยนแปลงไปด้วย ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลมีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับความเค็มน้ำระดับอื่นๆ และมีค่าสูงขึ้นตามความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งใน ครัสเตเชียนชนิดอื่นๆ ได้แก่ปู *E. sinensis* และ *C. maenas* (Gilles และ Pequeux, 1981) เนื่องจาก แร่ธาตุทั้ง 3 ชนิดนี้มีความเข้มข้นสูงมากและมีการเคลื่อนย้ายระหว่างอวัยวะต่างๆ และระหว่างภายในกับภายนอกร่างกายอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงนับว่ามีบทบาทต่อระบบสมดุลเกลือแร่ในเลือดปูชนิดนี้พอสมควร โดยเฉพาะอย่างยิ่งโซเดียมและคลอรีน ดังนั้นปริมาณของแร่ธาตุดังกล่าวจึงเพิ่มขึ้นตามความเค็มน้ำสัมพันธ์กับค่าออสโมลาลิตี้ เนื่องจากการแพร่เข้ามาผ่านทางเหงือก (influx) ของน้ำทะเลภายนอก โดยปูทะเลก็จะทำการปรับสภาพสมดุลภายในร่างกายให้เหมาะสมในสภาวะที่ความเค็มน้ำสูงหรือต่ำเกินไป ซึ่งการเพิ่มขึ้นของโซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียมในช่วงความเค็มน้ำจาก 5–25 ppt ดังกล่าว ดูเหมือนว่าจะสัมพันธ์กับความเค็มน้ำภายนอกแบบ hypertonic สำหรับปูชนิดนี้ที่เป็นสัตว์น้ำกร่อย คือแร่ธาตุดังกล่าวในเลือดปูทะเลมีความเข้มข้นสูงกว่าในน้ำภายนอกที่ระดับความเค็มน้ำ 5–25 ppt ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลแสดงภาวะ hyperosmoregulator คือ ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดภายในตัวปูทะเลมีค่าสูงกว่าค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำทะเลภายนอก ซึ่งพฤติกรรมการปรับสมดุลเช่นนี้มักจะพบในสัตว์ที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำกร่อย เช่น กุ้ง Penaeid หลายชนิด (Dall, 1981 ; Cawthorne et al., 1983), ปู *E. sinensis* (Pequeux และ Gilles, 1978), ปู *C. maenas*, *R. harrisi*, *U. pugilator*, *C. sapidus* และ isopod หลายชนิด ได้แก่ *S. pentodon*, *Cyathura polita*, *Gnorimosphaeroma oregonensis* (Shaw, 1961, Segal และ Burbanck, 1963, Smith, 1967, 1970, Hannan และ Euans, 1973, Gilles และ Pequeux, 1981, Robertson, 1982, อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

เมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้นทุกๆ 5 ppt จนถึงระดับความเค็มน้ำ 25 ppt ความเข้มข้นของโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียมในเลือดปูทะเลมีค่าสูงขึ้นตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น และอยู่ในสภาวะ hypertonic เช่นเดียวกับที่พบในครัสเตเชียนหลายชนิด เช่น ปู *C. sapidus* (Henry และ Cameron, 1982), ปู *O. quadrata* (Santos และ Moreira, 1999), ปู *C. magister* (Wheatly, 1985), ปูน้ำจืด *H. transversa* (Greenway, 1981), กุ้ง *C. crangon* (Hagerman และ Uglow, 1982) รวมทั้งกุ้ง Penaeid หลายชนิด (Castille และ Lawrence, 1981b อ้างโดย Cawthorne et al., 1983) ส่วนกุ้งมังกร *P. longipes* มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโซเดียมและคลอรีนในเลือดตามความเค็มน้ำภายนอก แต่ความเข้มข้นของโปแตสเซียมในเลือดจะแปรผกผันกับความเค็มน้ำภายนอก (Dall, 1974) ซึ่งต่างไปจาก mysid *L. mediterranea* ที่เมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำจะมีความเข้มข้นของโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียมในเลือดเท่ากับน้ำภายนอกและมีความเข้มข้นลดลงเมื่อน้ำภายนอกมีความเค็มสูงขึ้น (Lucu, 1978) หรือในกุ้ง *B. sandiegonensis* และ *S. woottoni* (Gonzalez et al., 1996) รวมทั้งกุ้ง *P. pugio* (Knowlton และ Kirby, 1984) ที่สามารถรักษาระดับความเข้มข้นของโซเดียมให้คงที่เมื่อน้ำภายนอกเปลี่ยนแปลงความเค็มไปในช่วง 1-40 ppt จากรายงานในปู blue crab *C. sapidus* พบว่า ที่ระดับความเค็มน้ำต่ำกว่า 26 ppt ค่าออสโมติกและไอออนต่างๆ ระหว่างเลือดกับน้ำทะเลจะมีค่าอัตราส่วนเพิ่มขึ้นเมื่อปูมีการอพยพไปสู่ที่น้ำความ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เค็มต่ำ (Mantel, 1967 อ้างโดย deFur, 1990) มีพฤติกรรมเช่นเดียวกันกับครัสเตเชียนที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำกร่อยและน้ำทะเล ซึ่งเมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น ค่าสัดส่วนหรือความต่างออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลจะมีค่าลดลงเรื่อยๆ (Mantel และ Farmer, 1983) รวมทั้งค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลกับน้ำภายนอกมีค่าใกล้เคียงกันที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt จากรายงานต่างๆ ข้างต้นนี้ แสดงให้เห็นว่า เมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มสูงขึ้น ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดจะมีความใกล้เคียงกับน้ำภายนอกมากขึ้น ดังนั้นที่ความเค็มน้ำภายนอกสูง (20–25 ppt) จึงน่าจะเป็นระดับความเค็มน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปูทะเล โดยพิจารณาจากระดับสัดส่วนหรือความต่างของค่าออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูทะเลกับน้ำภายนอก เพราะปูจะใช้พลังงานในการปรับสมดุลเกลือแร่ระหว่างภายในร่างกายกับน้ำภายนอกน้อยลง ส่งผลให้ปูไม่เกิดความเครียด มีความแข็งแรง มีอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้น เช่นเดียวกับกุ้งแชบ๊วย *P. merguiensis* ระยะวัยรุ่น (juvenile) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้กุ้งมีการเพิ่มผลผลิตสูงสุด คือที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt ร่วมกับอุณหภูมิ 28°C (Staples และ Heales, 1991) และจากการศึกษาของสุขจิรา (2541) ที่พบว่าระดับความเค็มน้ำ 30 ppt มีความเหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยจากระยะ post larva 32 จนถึงระยะก่อนโตเต็มวัย (adolescent) มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเค็มน้ำ 10 และ 20 ppt

การที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt เลือดปูมีปริมาณของโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียมต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับความเค็มน้ำอื่นๆ นั้น เป็นเพราะที่สภาวะความเค็มน้ำภายนอกต่ำ จะทำให้น้ำภายนอกที่มีความเจือจางแพร่เข้าสู่ร่างกาย และแร่ธาตุต่างๆ ในร่างกายก็จะแพร่ออกสู่น้ำภายนอก เพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายให้อยู่ในระดับที่มีความสมดุล ปูทะเลจึงต้องมีการปรับตัวให้อยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายสูงกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอก จึงต้องมีการดึงพลังงานมาใช้อย่างมากในการรักษาระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุต่างๆ โดยมีกลไกการขับน้ำออกจากร่างกาย เพราะน้ำภายนอกที่มีความเจือจางจะแพร่เข้าไปในร่างกายอยู่ตลอดเวลาตามหลักการของออสโมซิส (osmosis) ในขณะเดียวกันก็จะมีการดูดกลับเกลือแร่ไว้ภายในร่างกาย และลดการสูญเสียเกลือแร่ออกจากร่างกายโดยการลดขนาดของเยื่อเลือกผ่านให้เล็กลงและเพิ่มการเก็บสะสมปัสสาวะ ซึ่งมีแร่ธาตุต่างๆ เป็นองค์ประกอบให้มีปริมาตรคงที่และปรับระดับแรงดันน้ำ (hydrostatic pressure) ภายในร่างกายให้อยู่ในสภาวะปกติ (Mantel และ Farmer, 1983) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าปูทะเลจะมีกลไกต่างๆ ในการปรับสมดุลเกลือแร่ดังที่กล่าวมา แต่ภายใต้สภาวะความเค็มน้ำต่ำมากๆ เพียง 5 ppt นี้ ปูทะเลก็ยังต้องสูญเสียแร่ธาตุต่างๆ ภายในร่างกายออกสู่สิ่งแวดล้อม และต้องรับน้ำภายนอกจากการแพร่เข้ามาอยู่ตลอดเวลา จึงเป็นเหตุให้ปูมีปริมาณของแร่ธาตุต่างๆ ในเลือดต่ำกว่าที่ความเค็มน้ำอื่นที่สูงกว่านี้ และมีผลกระทบต่อปริมาณของโซเดียม โปตัสเซียม และคลอรีน ในเปลือกปูทะเลอีกด้วย ถึงแม้ว่าแร่ธาตุทั้ง 3 ชนิดนี้ ไม่ได้เป็นองค์ประกอบหลักในเปลือกก็ตาม โดยการเลี้ยงปูที่ความเค็มน้ำสูงกว่ามีผลทำให้ปูมีโอกาสมากขึ้นในการดูดซึม และสามารถนำไปใช้ในร่างกายทางสรีระเคมีและขบวนการสร้างเปลือกอีกทางหนึ่งด้วย

ดังนั้นการเลี้ยงปูทะเลในระดับความเค็มน้ำต่ำเกินไปนี้จึงไม่น่าจะเหมาะสม เนื่องจากปูทะเลต้องใช้พลังงานมากในการปรับสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายให้อยู่ในสภาวะที่สมดุล ซึ่งจะทำให้ปูทะเลเกิด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ความเครียด ร่างกายอ่อนแอ ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงและอาจจะทำให้อัตราการตายเพิ่มขึ้นได้ ดังเช่นที่พบในครัสเตเชียนหลายชนิด (Kirkpatrick และ Jones, 1985 ; Gelin et al., 2001)

9. แคลเซียม

แคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างเปลือก โดยเป็นองค์ประกอบหลักของเปลือกปูทะเล (Pratoomchat et al., 2002a) ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณที่ค่อนข้างต่ำในเลือด จากผลการทดลอง พบว่าระดับการเปลี่ยนแปลงของแคลเซียมในเลือดปูทะเลมีพฤติกรรมคล้ายกับธาตุต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น คือมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเค็มของน้ำภายนอกเพิ่มสูงขึ้น แต่กลับมีค่าลดลงที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt สามารถอภิปรายได้หลายประเด็นดังนี้

ตามที่ทราบกันโดยทั่วไปว่า ครัสเตเชียนเมื่อย้ายจากที่น้ำความเค็มสูงไปสู่ที่น้ำความเค็มต่ำ จะทำให้ค่า pH ของเลือดมีค่าสูงขึ้น (metabolic alkalosis) เนื่องจากเมื่อความเค็มน้ำต่ำลง ค่า pH ของน้ำก็จะเปลี่ยนแปลงแบบแปรผันตรงกัน โดยจะมีค่า pH ต่ำลง คือมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น (มี H^+ มากขึ้น) และคาดว่าน่าจะมีผลทำให้เลือดปูมีสภาพเป็นกรดด้วย ซึ่งสภาพที่เป็นกรดนี้จะมีผลต่อการละลายของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) จากเปลือกเก่าและคิวติเคิลมาอยู่ในรูปของแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) จึงทำให้มีปริมาณของแคลเซียมอิออน และไบคาร์บอเนตในเลือดสูงขึ้น (Machado et al., 1988) เมื่อเลือดปูมีไบคาร์บอเนตสูงขึ้น ก็จะส่งผลให้มีค่า pH สูงขึ้น (Henry และ Cameron, 1982) อย่างไรก็ดี ไม่เพียงแต่แคลเซียมอิออนและไบคาร์บอเนต สารอินทรีย์อื่นๆ ก็มีการละลายเข้าสู่กระแสเลือดด้วย ได้แก่ แอมโมเนีย (NH_3) เพราะสัตว์จะต้องทำการปรับสภาพความสมดุลของเกลือแร่อย่างมากเมื่อความเค็มน้ำภายนอกมีระดับต่ำหรือสูงเกินไป (osmotic stress) จึงส่งผลให้มีกิจกรรมการใช้พลังงานและมีการขับถ่ายของเสียซึ่งอยู่ในรูปของแอมโมเนียมากขึ้น ซึ่งพบในครัสเตเชียนหลายชนิด (Mangum et al., 1976 ; Regnault, 1984 ; Rosas et al., 1999a) ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการ deamination (การขจัดเอาหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ออกจากสารประกอบ) ของกรดอะมิโนอิสระภายในเซลล์เพื่อนำไปใช้รักษาสมดุลปริมาตรของเซลล์ ทำให้ระดับของแอมโมเนียในเลือดสูงขึ้น เช่นในปู *C. sapidus* (Mangum et al., 1976) รวมทั้งการลดลงของไฮโดรเนียมไอออน (H^+) ในเลือด จากการเกิดพันธะกับแอมโมเนีย ซึ่งเกิดในปฏิกิริยา catabolism ของกรดอะมิโนอิสระ กลายเป็นแอมโมเนียม (NH_4^+) ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เลือดมีค่า pH สูงขึ้นด้วย (Weiland และ Mangum, 1975 อ้างโดย Mangum et al., 1976)

การแพร่กระจายของแคลเซียมในร่างกายสัตว์นั้น สามารถแบ่งได้เป็น 4 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 จะอยู่ในน้ำภายนอกร่างกายนั่นเอง ซึ่งจัดเป็นแหล่งแคลเซียมหลักสำหรับสัตว์น้ำที่จะดึงไปสะสมที่เปลือก (Travis, 1953, Dall, 1965 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) โดยแคลเซียมจะเข้าสู่ตัวปูโดยผ่านทางเหงือกและเก็บรักษาเอาไว้ในเลือด (Flemister, 1958, Dall, 1965 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) ดังนั้นเลือดจึงเป็นแหล่งของแคลเซียมส่วนที่ 2 จากนั้นส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ในเลือด โดยเฉพาะแคลเซียม จะถูกดึงจากเลือดด้วยกลไกแบบใช้พลังงาน (active transport) เข้าสู่

hypodermal cells และนำไปเก็บในเปลือก ซึ่งจัดเป็นส่วนที่ 3 ต่อไป (Drach, 1939, Travis, 1955, Waterman, 1960, Haefner, 1964 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) สำหรับแหล่งของแคลเซียมส่วนที่ 4 ก็คือ midgut gland ซึ่งจะเป็นส่วนที่เก็บสะสมแคลเซียมในช่วงระยะก่อนลอกคราบ (Glynn, 1968 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) จึงจัดเป็นแหล่งแคลเซียมสำรองที่จะจ่ายให้แก่เปลือกโดยผ่านทางเลือดในช่วงเวลาที่เหมาะสม คือช่วงระยะหลังลอกคราบ ดังนั้นการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากน้ำภายนอกเข้าสู่เปลือกสัตว์ จึงขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ของส่วนต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น และความเข้มข้นของแคลเซียมในเลือดที่ความเค็มน้ำแตกต่างกันก็น่าจะได้รับผลกระทบจากปริมาณการสะสมในเปลือกเป็นส่วนสำคัญ

ด้วยสาเหตุต่างๆ ดังกล่าวนี้ ที่ระดับความเค็มน้ำต่ำ ความเข้มข้นของแคลเซียมในเลือดน่าจะมีสูงกว่าที่น้ำความเค็มสูง (5 ppt กับ 25 ppt) แต่ผลการทดลองกลับไม่เป็นเช่นนั้น คือ ปริมาณแคลเซียมในเลือดปูที่ความเค็ม 5 และ 25 ppt ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้มีความใกล้เคียงกับที่พบในกุ้ง *C. crangon* ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 3 ระดับ คือ 10, 15 และ 20 ppt เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของแคลเซียมในเลือดกุ้งชนิดนี้ พบว่า ที่ความเค็มน้ำ 15 ppt มีปริมาณแคลเซียมในเลือดสูงกว่าที่ความเค็มอื่นๆ และที่ความเค็มน้ำ 10 และ 20 ppt มีปริมาณแคลเซียมในเลือดใกล้เคียงกัน (Hagerman และ Uglow, 1982) (แต่ผู้ทดลองไม่ได้อธิบายเอาไว้ว่า เหตุใดที่ความเค็มน้ำ 15 ppt จึงมีปริมาณแคลเซียมในเลือดสูงกว่าที่ความเค็มน้ำอื่นๆ) จึงสันนิษฐานว่าอาจจะเป็นไปได้สำหรับสิ่งที่เกิดขึ้นในปูทะเล กล่าวคือเกิดจากที่ระดับน้ำความเค็มต่ำ แคลเซียมจะถูกดูดซึมกลับจากเปลือกเข้าสู่เลือด เพราะในน้ำความเค็มต่ำจะมีแคลเซียมอยู่น้อยเมื่อเทียบกับในน้ำความเค็มสูง ดังจะเห็นได้จากรายงานของ Haefner (1964) ที่พบความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงระหว่างน้ำหนักเปลือกปู *C. sapidus* ระยะหลังลอกคราบ (postmolt) กับความเค็มน้ำภายนอก โดยพบว่าปูที่อยู่ในน้ำความเค็ม 10 ppt จะมีน้ำหนักเปลือกน้อยกว่าปูที่อยู่ในน้ำความเค็ม 30 ppt และได้อธิบายว่าความแตกต่างของน้ำหนักเปลือกปูมีสาเหตุจากการสะสมแคลเซียมที่มากขึ้นในเปลือกปูที่อยู่ในน้ำความเค็มสูง ซึ่งที่น้ำความเค็มสูงจะมีแคลเซียมสำหรับปูมาก ปูจึงมีการดึงไปเก็บสะสมในเปลือกมาก ส่งผลให้มีน้ำหนักเปลือกมากกว่าที่น้ำความเค็มต่ำ นอกจากนี้ Travis และ Friberg (1963) ก็ได้อธิบายเอาไว้ว่า ปริมาณของแคลเซียมที่สะสมในโครงสร้างเปลือกชั้นของ crayfish *O. virilis* นั้น ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคลเซียมอิออนในน้ำภายนอก คือถ้าน้ำภายนอกมีความเค็มสูง ก็จะมีแคลเซียมอิออนปริมาณสูงและทำให้มีการสะสมแคลเซียมใน exocuticles และ endocuticles มากขึ้น และแม้ว่าแคลเซียมบางส่วนจะมีการสะสมไว้ในเลือดและ midgut gland ของก่อนที่จะลอกคราบอยู่ก่อนแล้ว แต่แคลเซียมส่วนใหญ่ที่ใช้ในการทำให้เปลือกแข็งขึ้นก็ได้รับมาจากน้ำทะเลภายนอก (Hecht, 1914, Travis, 1955 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) หมายความว่า ที่น้ำความเค็มต่ำ แคลเซียมจะถูกละลายจากเปลือกเข้าสู่เลือดและมีการสะสมมากขึ้นเรื่อยๆ ก็อาจจะทำให้เกิดความเป็นพิษสำหรับปูทะเลได้ถ้ามีแคลเซียมในเลือดมากเกินไป ดังนั้นปูทะเลจึงต้องพยายามขับแคลเซียมออกจากเลือดไปสู่อวัยวะอื่นๆ เพื่อลดความเข้มข้นลง เช่น midgut gland, hepatopancreas และเก็บสะสมเอาไว้ช่วงระยะเวลาหนึ่ง จากนั้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เมื่อปูทะเลเข้าสู่ระยะ D_3 (ระยะก่อนลอกคราบตอนปลาย ; late premolt stage) ก็จะดึงแคลเซียมเหล่านั้นออกมาใช้สำหรับเป็นโครงสร้างของคิวติเคิลใหม่ที่จะสร้างเป็นเปลือกต่อไป

จากกรณีการศึกษาในปูทะเล (*S. serrata*) ก็ได้ผลส่วนใหญ่สอดคล้องกับงานวิจัยในอดีต กล่าวคือจะพอมองเห็นการเคลื่อนย้ายแคลเซียม จากเปลือกสู่ระบบเลือด มีผลมาจากการละลายจากเปลือกเก่าในสภาวะการเลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำ ช่วง 10-15 ppt และให้ผลในทางตรงกันข้ามช่วงความเค็มน้ำ 20-25 ppt ยกเว้นที่ความเค็มน้ำ 5 ppt ที่พบว่าปริมาณแคลเซียมในเปลือกมีปริมาณที่ยังสูงอยู่ ขณะที่ในเลือดปูทะเลมีปริมาณแคลเซียมต่ำ ก็อาจจะมีสาเหตุมาจากการที่น้ำภายนอกมีความเค็มต่ำจะทำให้ระดับ pH ในเลือดสูงขึ้น ผลที่ตามมาคือแร่ธาตุที่มีประจุลบและบวกจะมีโอกาสจับตัวกันและตกตะกอน (precipitation) ได้มากขึ้น ซึ่งเป็นการรวมตัวกันเกิดเป็นสารประกอบเพื่อทำการสร้างเปลือกใหม่ เพราะเป็นช่วงที่ปูเข้าสู่ระยะก่อนลอกคราบ (premolt, D_1) ปัจจัยดังกล่าวเป็นการเอื้ออำนวยต่อการสร้างเปลือกใหม่ เพราะการสร้างเปลือกของครัสเตเชียนโดยทั่วไปจะเป็นไปได้ดีในสภาวะที่ของเหลวในร่างกาย โดยเฉพาะเลือดมีสภาวะเป็นด่างเล็กน้อย โดยการนำเอาโปรตีน – คาร์โบไฮเดรตไปใช้ในการสร้างเปลือกใหม่ (sclerotinization) ที่ยังคงเป็นชั้นของ epicuticle ในระยะ D_1 และจะมีการนำสารอินทรีย์ดังกล่าวมาทำการสร้างเปลือกร่วมกับแคลเซียมคาร์บอเนตต่อไป (calcification) ในระยะก่อนลอกคราบตอนปลาย (stage D_2-D_3) (Pratoomchat et al.2002a) จากสภาวะดังกล่าวนี้ แคลเซียมอาจจะจับตัวกับโปรตีนหรือสารอื่นๆ ที่มีประจุลบในเลือด ดังเช่นที่พบในปู *G. lateralis* มีแคลเซียมทั้งหมดในเลือด 22 mmol แต่พบว่าเป็นแคลเซียมที่จับตัวอยู่กับโปรตีนถึง 13.4 mmol (Skinner et al., 1965 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) รวมทั้งที่พบในครัสเตเชียนชนิดอื่นๆ เช่น *E. asiatica*, crayfish *A. pallipes*, *O. limusus* (Sitaramaiah และ Krishnan, 1966, Greenaway, 1972, Andrews, 1976 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) และแคลเซียมที่เกิดพันธะกับสารอื่นนี้จะถูกดึงเข้าสู่คิวติเคิลหรือตกตะกอนชั่วคราว ส่งผลให้ระดับแคลเซียมในเลือดที่น้ำความเค็มต่ำมีปริมาณลดน้อยลงก็เป็นได้ และถ้าเหตุการณ์เป็นอย่างนี้จริง ที่ระดับความเค็มน้ำต่ำอาจจะช่วยกระตุ้นให้ปูทะเลมีการสร้างเปลือกใหม่ได้ดีกว่า ส่งผลให้ปูทะเลมีการลอกคราบเร็วกว่าที่ความเค็มน้ำสูง หรืออาจจะเกิดจากการเจือจางโดยน้ำภายนอก หรือเกิดการกระตุ้นการสร้างเปลือกที่ความเค็มต่ำมาก ๆ ดังมีหลักฐานจากงานวิจัยหลายฉบับที่แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ carbonic anhydrase จะมีความเข้มข้นสูงขึ้นใน epidermis ปูที่อยู่ในน้ำความเค็มต่ำ หรือในปูที่อยู่ในระยะก่อนลอกคราบตอนปลายและระยะหลังลอกคราบ (Henry และ Kormanik, 1985) เพราะว่าเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของแคลเซียมเพื่อการสร้างเปลือก

อย่างไรก็ตาม การที่ปูทะเลอยู่ในน้ำที่มีความเค็มต่ำเกินไปนั้น อาจจะส่งผลให้ปูเกิดความเครียดสูง ทำให้ต้องมีการบริโภคอาหารมากขึ้น และมีการขับถ่ายของเสียมากขึ้น และต้องสูญเสียพลังงานในการปรับสภาพทางสรีรเคมีและสมดุลออสโมติกมากกว่าที่จะนำไปใช้ในการสร้างเปลือกใหม่ดังเช่นรายงานการศึกษาที่พบในครัสเตเชียนหลายชนิดมีอัตราการตายสูงเมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำ (Kirkpatrick และ Jones, 1985 ; Gelin et al., 2001) ซึ่งการตายของปูทะเลก็มีสูงที่สภาวะความเค็มน้ำต่ำ 5 ppt เช่นกัน จึงไม่

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

น่าจะเอื้ออำนวยต่อขบวนการทางสรีระเคมีที่ควรจะเป็นไปตามทฤษฎีคือการละลายจากเปลือกเก่า จึงไม่ส่งผลต่อการลดลงในเปลือกก็เป็นได้

ส่วนกรณีที่ระดับความเข้มข้นของแคลเซียมในเลือดปูทะเลที่ระดับความเค็มน้ำสูง (25 ppt) มีน้อยกว่าที่ความเค็มน้ำ 15 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ก็เนื่องมาจากการที่ปูทะเลอยู่ในน้ำความเค็มสูง จะทำให้ได้รับแคลเซียมจากน้ำภายนอกโดยการแพร่เข้าสู่ร่างกายเป็นปริมาณมากตามความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น นั่นคือน้ำภายนอกเป็นแหล่งแคลเซียมหลักของสัตว์น้ำ ครัสเตเชียนหลายชนิด เช่น กุ้งมังกร, ปู blue crab *C. sapidus*, กุ้ง *Metapenaeus* sp. จะได้รับแคลเซียมมาจากน้ำภายนอกมากที่สุดโดยการแพร่ผ่านทางเหงือก และเก็บเอาไว้ในเลือด (Travis, 1953, Flemister, 1958, Dall, 1965 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) ดังนั้นที่น้ำความเค็มสูง ปูทะเลจึงต้องพยายามปรับสมดุลเกลือแร่เพื่อให้ร่างกายไม่ได้รับอันตรายจากการแพร่เข้าของแคลเซียมมากเกินไป โดยการพยายามขับแคลเซียมออกจากร่างกายอย่างรวดเร็วและปริมาณมาก จะเห็นได้จากปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นในเปลือกที่ระดับสูงมากกว่าการเลี้ยงในความมเค็มน้ำ 15 ppt อย่างมีนัยสำคัญ จึงเป็นสาเหตุให้ที่ความเค็มน้ำ 25 ppt เลือดปูมีความเข้มข้นของแคลเซียมน้อยกว่าที่ความเค็มน้ำ 15 ppt

ระดับความเค็มน้ำในช่วง 10–20 ppt ดูจะเป็นช่วงความเค็มน้ำที่เหมาะสมสำหรับการปรับตัวทางสรีระของปูทะเล โดยที่ความเข้มข้นของแคลเซียมไม่ได้รับผลกระทบมากนัก ดังนั้นค่าความเข้มข้นของแคลเซียมที่สูงและค่อนข้างคงที่ทั้งในเลือดและในเปลือกจึงเกิดขึ้นที่ช่วงระดับความเค็มน้ำนี้ อีกทั้งความเข้มข้นของแคลเซียมในเลือดปูทะเลก็มีค่าใกล้เคียงกับในน้ำภายนอก ความเข้มข้นของแคลเซียมนี้เหมือนกับในเลือดปูทะเลที่อยู่ในระยะ ลอกคราบ $B–C_1$ หรือระยะ D_2 ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 20 ppt (Pratoomchat et al., 2002a)

10. แมกนีเซียม แมงกานีส ทองแดง ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส

การเปลี่ยนแปลงของแมกนีเซียม แมงกานีส ทองแดง ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส ระหว่างในเลือดและในเปลือกปูทะเล (*S. serrata*) มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างชัดเจน กล่าวคือแร่ธาตุทั้ง 5 ชนิดทั้งปริมาณในเลือดและเปลือกจะมีแนวโน้มสูงมากขึ้นเมื่อเลี้ยงในความเค็มน้ำสูงขึ้น แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของความเค็มน้ำ ซึ่งความเค็มน้ำที่สูงขึ้นย่อมส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นของแร่ธาตุดังกล่าวสูงขึ้นตามไปด้วยในน้ำ (Spotte, 1992) ซึ่งปูทะเลสามารถยอมรับได้ดี เป็นการสนับสนุนกลไกการสร้างเปลือก ดังจะเห็นได้ชัดเจนว่าปริมาณแร่ธาตุทั้งหมดนี้จะพบสูงเพิ่มมากขึ้นช่วงความเค็มน้ำสูง (20-25 ppt) นอกจากนี้แมกนีเซียมยังมีส่วนช่วยในเรื่องของสมดุลเกลือแร่ ความต่างศักย์ของเมมเบรน และขบวนการของเอนไซม์ (Davis และ Lawrence, 1997)

ยกเว้นปริมาณทองแดงในเปลือกที่ไม่เปลี่ยนแปลง เนื่องจากมีปริมาณที่ต่ำมากในเปลือก และฟอสฟอรัสในพลาสมาที่มีค่าลดลงจากความเค็มน้ำ 5 ppt จนเหลือต่ำสุดที่ 15 ppt จากการที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสมีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างไปจากแร่ธาตุอื่น ซึ่งลดลงในช่วงความเค็ม 10-15 ppt นั้น อาจ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จะเป็นไปได้ที่ว่าการเปลี่ยนแปลงของฟอสฟอรัสไม่ได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านความเค็มน้ำเป็นหลัก แต่การเพิ่มลดของฟอสฟอรัสมีอิทธิพลมาจากอาหารมากกว่า โดยมีความเค็มน้ำเป็นปัจจัยเกื้อหนุนเท่านั้น อย่างไรก็ดีปริมาณฟอสฟอรัสก็ยังคงพบในปูที่เลี้ยงที่ความเค็มสูง เนื่องจากในแหล่งน้ำธรรมชาติมีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำ (Boyd, 1981) การดูดซึมฟอสฟอรัสของสัตว์น้ำโดยทั่วไปยังมีไม่เพียงพอ ดังนั้นฟอสฟอรัสในอาหารสัตว์ครัสเตเชียมีความสำคัญ (Kitabayashi et al., 1971; Deshimaru และ Yone, 1978; Kanasawa et al., 1984 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) มีผลมาจากเนื่องจากกุ้งมีความจำเป็นต้องใช้ฟอสฟอรัสในการสร้างเปลือกตลอดวงจรการลอกคราบตามที่ทราบแล้วว่า ขบวนการสร้างเปลือกของสัตว์ครัสเตเชียนนั้น แมกนีเซียมและฟอสฟอรัส นับว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความจำเป็นสูงและเป็นแร่ธาตุหลักที่รองจากแคลเซียมและไบคาร์บอเนต เพื่อใช้ในการสร้างเปลือก ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปของแมกนีเซียมคาร์บอเนตและฟอสเฟต ซึ่งในขบวนการสร้างเปลือก การสะสมแร่ธาตุ (calcification/biomineralization) นั้นปูทะเลมีการสร้างชั้นเปลือกช่วงแรกด้วยการใช้แมงกานีส ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ ค่อนข้างมาก และยังมีความจำเป็นในโครงสร้างเปลือกอย่างต่อเนื่อง (Pratoomchat et al., 2002 a, b)

ส่วนปริมาณซัลเฟอร์พบมากขึ้นที่ความเค็มสูง จึงเป็นข้อได้เปรียบของปูทะเลที่เลี้ยงความเค็มสูงในแง่ของการสร้างเปลือก เนื่องจากซัลเฟอร์มีบทบาทอย่างมากในขบวนการสร้างเปลือกและเนื้อเยื่อ (cuticle formation and tissue minearalization) ในแง่เป็นตัวเชื่อมโยงและเหนี่ยวนำ (nucleator) โดยซัลเฟอร์นั้นจะเป็นองค์ประกอบหรือส่วนประกอบของมิวโคโพลีแซคคาไรด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไกลโคสอมิโนไกลแคน ซึ่งมีบทบาทมากในขบวนการสร้างเปลือก (Gunthorpe et al., 1990; Pratoomchat et al., 2002 a) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของปริมาณซัลเฟอร์มีความสัมพันธ์กับปริมาณไกลโคสอมิโนไกลแคนในเลือดในการศึกษานี้

ในทำนองเดียวกันปริมาณทองแดงในเลือดที่มีค่าสูงขึ้นในเลือดปูทะเลตามความเค็มน้ำที่เพิ่มนั้นยังมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโปรตีน ทั้งนี้เพราะว่าทองแดงเป็นองค์ประกอบของฮีโมซัยนิน ทำหน้าที่เป็น respiratory pigment ช่วยในการลำเลียงออกซิเจน (Mangum, 1983) ซึ่งมีส่วนช่วยในแง่ของการใช้พลังงาน นอกจากนี้ทองแดงยังช่วยในเรื่อง enzyme activity ด้วย (Davis และ Lawrence, 1997) จึงน่าที่ทำให้ขบวนการทางชีวเคมีในร่างกายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงขึ้น

แมงกานีส ถึงแม้ว่าจะพบในปริมาณที่ต่ำมาก นอกจากเป็นองค์ประกอบในการสร้างเปลือกแล้วยังเป็น cofactor สำหรับเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ phosphate transferase, phosphate dehydrogenase, alkaline phosphatase, arginase และ hexokinase (Davis และ Lawrence, 1997) การที่พบในปริมาณที่สูงในเลือดที่ความเค็มน้ำสูงนั้น จึงน่าที่ทำให้ขบวนการทางชีวเคมีในร่างกายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงขึ้นเช่นกัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอกสารอ้างอิง

ชาติ เลิศธุรกิจสกุล และยอดชาย กรรณสูตร. 2522. สภาพการลอกคราบและการงอกใหม่ของรยางค์ปูทะเล. เอกสารฉบับที่7/2522, งานสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง,กองประมงน้ำกร่อย,กรมประมง. 11 หน้า.

ชลธี ชีวะเศรษฐธรรม. 2538. การเพาะเลี้ยงปูทะเล. เอกสารประกอบการสอน. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, วิทยาเขตปัตตานี, 127 หน้า.

ดาริน ชาญวิชัย. 2531. การปรับตัวของกุ้งกุลาดำวัยรุ่นต่อการเปลี่ยนแปลงระดับความเค็ม. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 31 หน้า.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ, บรรจง เทียนส่งรัศมี, จีรภา เจริญวงศ์ และผจงจิตต์ ยอดเจริญ. 2543. การเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในเลือดของปูทะเล (*Scylla serrata*) ในรอบ วงจรการลอกคราบ. รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 สาขาประมง 1 – 4 กุมภาพันธ์ 2543.

ประจวบ หลำอุบล. 2537. สรีรวิทยาของกุ้ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 293 หน้า.

สุริยะ จันทร์แก้ว. 2540. ผลของแอมโมเนียและความเค็มที่มีต่อการเจริญเติบโต ระยะเวลาการลอกคราบและปริมาณแคลเซียมในเปลือกของกุ้งกุลาดำ . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 57 หน้า.

สุขจิรา พงษ์หัสบรรณ์. 2543. ผลของความเค็มที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งแชบ๊วย. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา, 31 หน้า.

Bursey, C. R. and E. E. Bonner. 1977. Osmotic regulation and salinity tolerance of the Mole Crab, *Emerita talpoida* (Say) (Crustacea, Anomura). Comp. Biochem. Physiol. 57(A): pp. 207-210.

Cameron, J. N. 1985. Post-moult calcification in the blue crab (*Callinectes sapidus*): Relationships between apparent net H^+ excretion, calcium and bicarbonate. J Exp Biol. 119, 275-285.

Capen, R. L. 1972. Studies of water uptake in the euryhaline crab, *Rithropanopes harrisi*. J. Exp. Zool. 182: 307-320.

Cawthorne, D.F., Beard, T., Davenport, J. and J.F. Wickins. 1983. Responses of juvenile *Penaeus monodon* Fabricus to natural and artificial sea waters of low salinity. Aquacul. 32 : 165 – 174.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Dall, W. 1974. Osmotic and ionic regulation in the Western rock lobster *Panulirus longipes* (Milne-Edwards). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 15 : 97 – 125.

Dall, W. 1981. Osmoregulatory ability and juvenile habitat preference in some penaeid prawns. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 54 : 55 – 64.

Dalley R. 1980. Effect of Non - Circadian light / dark cycles on the growth and moulting of *Palaemon elegans* reared in the laboratory. Mar. Biol. 56: pp. 71-78.

Daroonchoo, L. Effect of Eyestalk Albation on Moulting Period of the Mud Crabs. M.S.c.Thesis, Mahidol University, Thailand. 120 p.

Davis, D.A. and A.L. Lawrence 1997. Minerals :In Crustacean Nutrition Advances in World Aquaculture Vol 6. D'Abramo L.R. et al. (Eds) P. 150-163.

deFur. 1990. Respiration during ecdysis at low salinity in blue crabs, *Callinectes sapidus* Rathbun. Bull. Mar. 46(1) : 48 – 54.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and ralated substances. Anal. Chem. 28(3), 350-356.

Gardiner, M.S. 1972. Excretion : Ionic and Osmotic Regulation. In : The Biology of Invertebrates. McGraw-Hill, New York, pp. 499 – 595.

Gelin, A., Crivelli, A.J., Rosecchi, E. and P. Karambrun. 2001. Can salinity change affect reproductive success in the brown shrimp *Crangon crangon*. J. Crust. Biol. 21(4) : 905 – 911.

Gilles, R. 1977. Effects of osmotic stresses on the protein concentration and pattern of *Eriocher sinensis* Blood. Comp. Biochem. Physiol. A56A : 109-104.

Gilles, R. and A. Pequeux. 1981. Cell regulation in Crustacean : Relation between mechanism for controlling the osmolality of extracellular and intracellular fluids. J. Exp. Zool. 215 : 351 – 362.

Gonzalez, R.J., Drazen, J., Hathaway, S., Bauer, B. and M. Simovich. 1996. Physiological correlates of water chemistry requirements in fairy shrimps (Anostraca) from Southern California. J. Crust. Biol. 16(2) : 315 – 322.

Greenfield, M.E., Wilson, D.C. and Grenshaw, M.A. 1984. Ionotropic nucleation of calcium carbonate by molluscan matrix. Amer. Zool. 24, 925-932.

Greenway, P. 1981. Sodium regulation in freshwater/land crab *Holthuisana transversa*. J. Comp. Physiol. (B). 142 : 451 – 456.

Gunthorpe, M.E, Sikes, C.S. and Wheller, A.P. 1990. Promotion and inhibition of calcium carbonate crystallisation *in vitro* matrix protein from blue crab exoskeleton. Biol. Bull. 179, 191-200.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Haefner, P.A. 1964. Hemolymph calcium fluctuations as related to environmental salinity during ecdysis of the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. Physiol. Zool. 37 : 247 – 258.

Hagerman, L. and R.F. Uglow. 1982. Effects of hypoxia on osmotic and ionic regulation in the brown shrimp *Crangon crangon* (L.) from brackish water. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 63 : 93 – 104.

Henry, R.P. and J.N. Cameron. 1982. Acid-base in *Callinectes sapidus* during acclimation from high to low salinity. J. Exp. Biol. 101 : 255 – 264.

Henry R.P., and M.G. Wheatly 1992. Interaction of respiration, ion regulation, and acid-base balance in the everyday life of aquatic crustaceans. Amer. Zool., 32: pp. 407-416.

Kirkpatrick, K. and M.B. Jones. 1985. Salinity tolerance and osmoregulation of a prawn, *Palaemon affinis* Milne Edwards (Caridea : Palaemonidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 93 : 61 – 70.

Knowlton, R.E. and D.F. Kirby. 1984. Salinity tolerance and sodium balance in the prawn *Palaemonetes pugio* Holthus, in relation to other Palaemonetes spp. Comp. Biochem. Physiol. (A). 77A : 425 – 430.

Lima, A.G., McNamara, J.C. and W.R. Terra. 1997. Regulation of hemolymph osmolytes and gill Na^+ / K^+ ATPase activities during acclimation to saline media in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 215 : 81 – 91.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275.

Lucu, C. 1978. Sodium balance and salinity tolerance of the mysid *Leptomysis mediterranea*. In : Physiology and Behavior of Marine Organisms. McLusky, D.S. and A.J. Berry (eds), Pergamon Press, New York, pp. 95 – 103.

Machado, J., Coimbra, J., SA, C., and Cadoso, I. 1988. Shell Thickning in *Anodonata cygnea* by Induced Acidosis. Comp. Biochem. Physiol. 19A (4) : 645 – 651.

Mangum, C.P. 1983. On the distribution of lactate sensitivity among the hemocyanins. Mar. Biol. Letter 4: 139-149.

Mangum, C. P. and Johansen, K. 1975. The colloid osmotic pressures of invertebrate body fluids. J. Exp. Biol. 63: 661-671.

Mangum, C.P., Silverthorn, S.U., Harris, J.L., Towle, D.W. and A.R. Krall. 1976. The relationship between blood pH, ammonia excretion, and adaptation to low salinity in the blue crab, *Callinectes sapidus*. J. Exp. Zool. 195 : 129 – 136.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Mantel, L.H. and L.L. Farmer. 1983. Osmotic and ionic regulation. In : The Biology of Crustacea (vol 5) : Internal anatomy and physiological regulation, Mantel, L.H. (ed), Academic Press, New York, pp. 53 – 61.

Moreira, G.S., McNamara, J.C. and P.S. Moreira. 1982. The effect of salinity on the metabolic rates of some palaemonid shrimp larvae. Aquacul. 29 : 95 – 100.

Passano, L.M. 1960. Molting and its control. In : The Physiology of Crustacea. Vol. 1, Waterman T.H. (ed), Academic Press, New York, pp. 437 – 536.

Petrocci, C. and M. Oesteerling, 1991. Soft shelling the hard crab. Aquacul. Mag. 17(5):104-107.

Pequeux, A. and R. Gilles. 1978. Osmoregulation of the euryhaline Chinese crab *Eriocheir sinensis*. Ionic transports across isolated perfused gills as related to the salinity of the environment. In : Physiology and Behavior of Marine Organisms. Cobb, J.S. and B.F. Phillips (eds). Pergamon Press, New York, pp. 105 – 111.

Pequeux, A., Vallota, A., and Gilles, R. 1979. Blood proteins as related to osmoregulation in crustacea. Comp. Biochem. Physiol. A64 : 433-435.

Popper, D.M. and R. Davidson. 1982. An experiment in rearing fresh water prawns in brackish water. Giant Prawn Farming. Selected Papers Presented at "Giant Prawn 1980", An International Conference on Freshwater Farming Held in Bangkok, Thailand. 10, pp. 173.

Potts, W.T.W. and Parry, G. 1964. Osmotic and ionic regulation in animals: *In*: International series of monographs on pure and applied biology, Kerkut, G.A. (Ed.), Pergamon press, Oxford, 423 pp.

Pratoomchat, B., Sawangwong, P., Pakkong, P. and J. Machado. 2002a. Organic and inorganic compound variations in haemolymph, epidermal tissue and cuticle over the molt cycle in *Scylla serrata* (Decapoda). Comp. Biochem. Physiol. 131A : 243 – 255.

Pratoomchat, B., Sawangwong, P. Guedes, R., Reis, M.D.L. and J. Machado. 2002b. Cuticle ultrastructure changes in the crab *Scylla serrata* over the molt cycle J Exp. Zool. 293(4): 414-426.

Price Sheets W.C. and J.E. Dendinger. 1983. Calcium deposition into the cuticle of the blue crab, *Callinectes sapidus*, related to external salinity. Comp Biochem. Physiol. 74A : 903 – 907.

Regnault, M. 1984. Salinity-induced changes in ammonia excretion rate of the shrimp *Crangon crangon* over a winter tidal cycle. Mar. Ecol. Prog. Ser. 20 : 119 – 125.

Rosas, C., Martinez, E., Gaxiola, G., Brito, R., Sanchez, A. และ L.A. Soto. 1999. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 234 : 41 – 57.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Rosas, C., Ocampo, L., Gaxiola, G., Sanchez, A. and L.A. Soto. 1999. Effect of salinity on survival, growth, and oxygen consumption of postlarvae (PL10 – PL21) of *Litopenaeus setiferus*. J. Crust. Biol. 19(2) : 244 – 251.

Rosas, C., Lopez, N., Mercado, P. and E. Martinez. 2001. Effect of salinity acclimation on oxygen consumption of juvenile of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. J. Crust. Biol. 21(4) : 912 – 922.

Santos, M.C.F. and G.S. Moreira. 1999. Time Course of osmoionic compensations to acute salinity exposure in the ghost crab *Ocypode quadrata* (Fabricius, 1787). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 235 : 91 – 104.

Sibers, D., Luco, C., Sperling, K.R., and Eberlein, K. 1972. Kinetics of osmoregulation in the crab *Carcinus maenas*. Mar. Biol. 17 : 291-303.

Skinner, D.M., 1985. Molting and regeneration. In: The Biology of Crustacea Vol.9. Integument, pigment, and homonal. Bliss E.D. and Mantel L.H. (eds). Academic press, New York, pp. 44-146.

Spivak, E.D. 1999. Effects of reduced salinity on juvenile growth of two co-occuring congeneric grapsid crabs. Mar. Biol. 134 : 249 – 257.

Spotte S. 1992 Captive seawater fishes Science and Technology John Wiley & Sons, New York, 942 pp

Staple, D.J. and D.S. Heales. 1991. Temperature and salinity optima for growth and survival of juvenile banana prawns *Penaeus merguiensis*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 154 : 251 – 274.

Teinsonrasmi, B. Pratoomchat. B and K. Chalermwat 1997. Resource rehabilitation and the potential to improve the exploitation of mud crab, *Scylla serrata* (Forskal) resource through pond culture NRCT/JSPS The 8th JSPS Joint Seminar on Marine Science "Marine Conservation and Resource Rehabilitation" Chaingrai, Thailand, 8-10 Dec. 1997, 8 p.

Travis, D.F. and U. Friberg. 1963. The deposition of skeletal structures in the crustacea. VI. Microradiographic studies on the exoskeleton of crayfish *Orconectes virilis* Hagen. J. Ultrastruct. Res. 9 : 285 – 301.

Truchot, J.P. 1983. Internal anatomy and physiological regulation. In : The Biology of Crustacea . vol 5, Bliss et al., (Eds) Academic Press, New York, pp : 431-452.

Uglow, R.F. 1969. Haemolymph protein concentration in portunid crab-I. Studies on adult *Carcinus maenas*. Comp. Biochem. Physiol. 30 : 1083-1090.

Waterman, H.T. 1960. Physiology of crustacea. Academic press, New York, vol.1, pp. 97-153.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

190645

Weiland, A.L. and Mangum, C.P. 1975. The influence of environmental salinity on hemocyanin function in the blue crab *Callinectes sapidus*. J Exp Biol 193: 265-274.

Wheatly, M.G. 1985. The role of the antennal gland in ion and acid-base regulation during hyposaline exposure of the Dungeness crab *Cancer margister* (Dana). J. Comp. Physiol. 155 : 445 – 454.

Wienberg, R. 1982. Studies on the influence of temperature, salinity, light, และ feeding rate on laboratory reared larvae of deep sea shrimp, *Pandalus borealis* Krayer 1838. Meeresforschung Rep. Mar. Res. 29 : 136 – 153.

คำนิยม

ขอขอบพระคุณงบประมาณแผ่นดินที่ได้สนับสนุนการวิจัยนี้ และภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลอง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University