



**พัฒนาการของคัพภะปูขาว (*Scylla paramamosain*)
ที่เลี้ยงในโรงผลิตแม่ปูทะเลระบบน้ำหมุนเวียน
Embryonic Development of Mud Crab (*Scylla paramamosain*)
Developed in Water Recirculation Housing System**

ฮาฟิซี เจ๊ะมะ, สุพัฒน์ คงพวง และ ซูกรี หะยีสาแม

Hafeezee Chema, Supat Khongpuang and Sukree Hajisamae

สาขาวิชาวิทยาการเกษตรและประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี, ประเทศไทย

Department of Agricultural and Fisheries Science, Faculty of Science and Technology,

Prince of Songkla University Pattani Campus, Thailand

Received : 26 July 2024, Received in revised form : 25 October 2024, Accepted : 30 October 2024

Available online : 14 November 2024

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์และที่มา : ปูขาว (*Scylla paramamosain*) เป็นสัตว์น้ำที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ขณะที่ความสำเร็จในการเพาะพันธุ์ปูทะเลยังมีน้อย ปัญหาหลักในการเพาะเลี้ยงคือ การขาดแคลนแม่พันธุ์ปูไข่นอกกระดองและแม่พันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ต่ำ การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพัฒนาการของคัพภะ เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรไข่นอกกระดองของปูขาว ที่กระตุ้นในโรงผลิตแม่พันธุ์ปูทะเลในระบบน้ำหมุนเวียน ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการพัฒนาการเพาะพันธุ์ปูทะเลในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย : เลี้ยงแม่ปูขาวที่มีไข่ระยะ 3-4 (Stage III - IV) ที่รวบรวมจากธรรมชาติและบ่อเลี้ยงแบบกึ่งธรรมชาติในระบบน้ำหมุนเวียนให้ปล่อยไข่นอกกระดอง เก็บตัวอย่างไข่นอกกระดองทุกวัน เพื่อศึกษาพัฒนาการ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรไข่นอกกระดองโดยใช้กล้องจุลทรรศน์โดยศึกษาจากแม่ปูไข่นอกกระดองจำนวน 93 ตัว ในช่วงเวลาการทดลอง 14 เดือน (เดือนมกราคม พ.ศ. 2566 - เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2567) เปรียบเทียบขนาดของไข่ในวันที่ 1-11 ในช่วงพัฒนาการของไข่ ด้วยการใช้วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และ DMRT รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรขนาดของไข่กับระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาของไข่ โดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple linear regression)

ผลการวิจัย : ระยะพัฒนาการของไข่นอกกระดองของปูขาวประกอบด้วย ระยะคลีเวล ระยะบลาสตูลา ระยะแกสตูลา ระยะเกิดจุดตาและเมดิสี ระยะการสร้างส่วนนอกและลำตัว และระยะการเต้นของหัวใจ-ก่อนฟักไข่ ตามลำดับ เซลล์ไข่นอกกระดองใช้เวลาในการพัฒนาตั้งแต่วันแรกที่มีไข่นอกกระดองจนกระทั่งฟักเป็นซูเลียจะอยู่ในช่วง 9-11 วัน ที่ความเค็มของน้ำ 32-35 ppt และอุณหภูมิ 27-30 °C โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรไข่เฉลี่ยวันแรกเท่ากับ 348.71 ± 15.85 ไมโครเมตร และ $21.51 \pm 3.04 \times 10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร ตามลำดับ เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่เฉลี่ยและปริมาตรไข่เฉลี่ยในวันที่ 8 (ก่อนฟักเป็นซูเลีย)



เท่ากับ 412.38 ± 19.10 ไมโครเมตร และ $35.97 \pm 5.12 \times 10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร ตามลำดับ เส้นผ่านศูนย์กลาง (ไมโครเมตร) และปริมาตร (ลูกบาศก์ไมโครเมตร) ของไข่นอกกระดอง สามารถอธิบายโดยระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ (วัน) ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) โดยสมการการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย มีค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจเท่ากับ 68.83% และ 68.28% ตามลำดับ พบการฟักตัวของไข่ในวันที่ 9 โดยไข่มีสีเทาหรือสีดำ และเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่เท่ากับ 425.58 ± 17.69 ไมโครเมตร หรือมีปริมาตรของไข่เท่ากับ $39.55 \pm 5.08 \times 10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร

สรุปผลการวิจัย : ปูขาว (*S. paramamosain*) มีระยะในการพัฒนาของไข่นอกกระดอง 6 ระยะ เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของไข่นอกกระดองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามระยะในการพัฒนา เส้นผ่านศูนย์กลางไข่เฉลี่ยอยู่ในช่วง 348.71- 437.16 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่นอกกระดองเป็นระยะชุกเฉียบ เท่ากับ 412.38 ± 19.10 ไมโครเมตร ขนาดของไข่ (เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตร) สามารถอธิบายโดยใช้ระยะเวลาในการพัฒนา(วัน) โดยค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจประมาณ 68 %

คำสำคัญ : ชีววิทยาของปูทะเล ; การเพาะเลี้ยงปูทะเล ; ครัสเตเชียน ; ชีววิทยาการสืบพันธุ์

Abstract

Background and Objectives : Mud crab (*Scylla paramamosain*) is a potentially economic aquatic culture species with less success in propagation. One of the major problems of mud crab culture is lacking quality and low reproductive berried female broodstock. This study aims to assess embryonic development, egg diameter, and egg volume of berried female mud crabs incubated in a recirculation broodstock housing system at Prince of Songkla University, Pattani Campus to provide supporting data for *S. paramamosain* hatchery propagation.

Methodology : The methods used include rearing female mud crab broodstock (stage III-IV), collected from the wild and semi-intensive pond culture, in the recirculation broodstock housing system. Egg samples from berried female crabs were collected daily to investigate embryonic development, egg diameter, and egg volume. Altogether, 93 samples of berried female crab were determined during a period of 14 months (January 2023 – February 2024). Compared the egg size among different days of the incubation period by using one-way ANOVA with DMRT *post hoc* test and investigated the relationship between egg size and the incubation period by using simple linear regression.

Main Results : Embryonic development of *S. paramamosain* including cleavage, blastula, gastrula, eyespot-pigmentation, thoracico-abdominal and heartbeat-prehatching stages. The incubation period was 9 -11 days at water salinity and temperature of 32-35 ppt and 27-30 °C, respectively. The average diameter and volume of egg on the first day of spawning were 348.71 ± 15.85 μm and $21.51 \pm 3.04 \times 10^6$ μm^3 , respectively. It later increased to 412.38 ± 19.10 μm and $35.97 \pm 5.12 \times 10^6$ μm^3 , respectively on the prehatching day. Egg diameter (μm) and egg

volume (μm^3) were significantly determined ($p < 0.01$) by the incubation period of egg development (day) using a simple linear regression model at the coefficient of determinations (R^2) of 68.83% and 68.28%, respectively. During the incubation period, the egg color changed gradually from yellow to orange, brown, gray, and black, respectively. The first hatching was found on day 9 while the egg color was gray or black and the egg diameter of $425.58 \pm 17.69 \mu\text{m}$ or the egg volume of $39.55 \pm 5.08 \times 10^6 \mu\text{m}^3$.

Conclusions : Mud crab egg embryonic development was classified into 6 stages. Egg diameter and egg volume increased significantly during the development period. The egg diameter varied from 348.71 - 437.16 μm . Prehatching egg diameter was $412.38 \pm 19.10 \mu\text{m}$. The size of the egg (diameter and volume) was determined by the incubation period of egg development (day) with the R^2 of 68%.

Keywords : mud crab biology; mud crab culture; crustacean; reproductive biology

*Corresponding author. E-mail : supat.k@psu.ac.th

บทนำ

ปูทะเลในสกุล *Scylla* มีชื่อเรียกโดยทั่วไปว่า Mud crab มีทั้งหมด 4 ชนิดได้แก่ปูดำ (*S. olivacea*) ปูขาว (*S. paramamosain*) ปูม่วง (*S. tranquebarica*) และปูเขียว (*S. serrata*) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจและสังคมของประเทศไทย นอกจากเป็นที่นิยมบริโภคภายในประเทศแล้ว ยังเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศทั้งประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี อเมริกา และฮ่องกง (Ferdoushi *et al.*, 2010) ปูทะเลเป็นสัตว์น้ำที่มีรสชาติดี นิยมบริโภคในหลายประเทศทั้งในรูปแบบเนื้อ ปูไข่ และปูนิ่ม ตลาดมีความต้องการสูง แต่การเพาะพันธุ์ไม่สามารถเพิ่มอุปทานลูกปู (Crablet) ได้มากพอ ทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้พันธุ์ปูจากธรรมชาติ โดยจับปูที่มีขนาดเล็กนำมาขุนให้เป็นปูเนื้อหรือปูไข่ในบ่อดิน (Noorbaiduri *et al.*, 2014) เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาด ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของสาเหตุที่ทำให้ประชากรของปูทะเลในธรรมชาติลดลง

ปัจจุบันการเพาะพันธุ์ปูทะเลในประเทศไทยยังไม่ค่อยประสบความสำเร็จ เนื่องจากอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปูทะเลของประเทศ ขาดแคลนแม่พันธุ์ปูไข่นอกกระดองที่มีคุณภาพ ไม่สามารถพึ่งพาแม่พันธุ์ปูไข่นอกกระดองจากธรรมชาติได้ เนื่องจากปูทะเลเพศเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์และมีไข่ในกระดอง จะย้ายถิ่นอาศัยจากบริเวณชายฝั่งออกไปวางไข่ในชายฝั่งไกลสุดประมาณ 95 กิโลเมตร หรือในทะเลที่ระดับความลึกมากที่สุดถึง 60 เมตร (Hill, 1994) ในปี พ.ศ. 2566 ประเทศไทยมีฟาร์มเลี้ยงปูทะเล *Scylla* spp. รวม 5,170 ฟาร์ม มีผลผลิตจากการเลี้ยง 3,536.19 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,257.74 ล้านบาท (Department of Fisheries, 2024) จากข้อมูลข้างต้น หากกำหนดให้แม่ปูทะเล 1 ตัว ให้ Zoea I ประมาณ 1 ล้านตัว โดยมีอัตราการรอดจากระยะ Zoea ถึงระยะ Crablet ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการรอดจากระยะ Crablet ถึงปูขนาดตลาด (4 ตัว/กิโลกรัม) เท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ จะต้องใช้แม่ปูที่มีไข่ในกระดองประมาณ 565 ตัว/ปี เพื่อผลิตลูกปูให้เพียงพอต่อการเลี้ยง

จากสถิติกรมประมง ผลผลิตจากการเลี้ยงปูทะเลของประเทศไทยเพิ่มขึ้นจาก 1,321.28 ตัน ในปี พ.ศ. 2561 เป็น 3,536.19 ตัน ในปี พ.ศ. 2566 (Department of Fisheries, 2024) หรือมีอัตราการเพิ่มขึ้นของผลผลิตเฉลี่ย 36.67 เปอร์เซ็นต์ต่อปี ด้วยเหตุดังกล่าว การผลิตแม่ปูทะเลไข่นอกกระดองจากโรงเพาะฟักเป็นทางเลือกที่จำเป็นต่อการเลี้ยงปูทะเลอย่างยั่งยืน

อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงปูทะเลให้ประสบความสำเร็จนั้น นอกจากจะใช้ความรู้ทางเทคนิคการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแล้ว ยังต้องอาศัยความรู้พื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ด้านต่าง ๆ เช่น ชีววิทยาของสัตว์น้ำ ชีววิทยาการสืบพันธุ์ พฤติกรรม การจับคู่ผสมพันธุ์ กระบวนการปฏิสนธิ รวมทั้งการพัฒนาคัพภะ เป็นต้น การศึกษาค้นคว้าวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพัฒนาการของคัพภะของปูขาว (*S. paramamosain*) รวมถึงขนาดของไข่ (เส้นผ่านศูนย์กลาง และปริมาตร) และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของไข่ กับระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ โดยศึกษาจากแม่ปูขาวที่กระตุ้นให้มีไข่นอกกระดองในโรงผลิตแม่พันธุ์ในระบบน้ำหมุนเวียน ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ของปูทะเลที่กระตุ้นในโรงเรือน ซึ่งเป็นแนวทางที่มีศักยภาพในการผลิตแม่พันธุ์ปูไข่นอกกระดองเพื่อการพัฒนาเพาะเลี้ยงปูทะเลในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมแม่พันธุ์ปู

ใช้แม่พันธุ์ปูขาว (*S. paramamosain*) ที่คัดเลือกแม่พันธุ์ปูขาวไข่แก่ในกระดองระยะที่ 3-4 ด้วยวิธีตรวจสอบระยะไข่จากปริมาณของรังไข่ด้วยการส่องด้วยไฟฉาย LED (Light emitting diode) ซึ่งลักษณะสีฐานของรังไข่ระยะดังกล่าวจะขีดขอบกระดองครอบคลุมเนื้อที่ 75-100 เปอร์เซ็นต์ ของช่องว่างภายในลำตัว (ดัดแปลงจาก Kumnerdmanee & Nuddee., 2022) ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโดยการแช่ในฟอร์มาลดีไฮด์ 150 ppm พร้อมให้อากาศ เป็นเวลา 30 นาที (Khan & Weelden, 2017) หลังจากนั้น นำมาวัดความกว้างของกระดอง ความยาวของกระดองและชั่งน้ำหนัก พร้อมเขียนรหัสไว้บนกระดองแม่ปู ก่อนนำไปเลี้ยงเพื่อกระตุ้นให้ปล่อยไข่ในโรงผลิตแม่พันธุ์ในระบบน้ำหมุนเวียน ระยะเวลาศึกษา 14 เดือน (มกราคม พ.ศ. 2566 - กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2567) คัดแม่ปูไข่นอกกระดองจำนวน 93 ตัว มาใช้ในการศึกษาค้นคว้า

วิธีการทดลอง

1. ระบบเลี้ยงแม่พันธุ์ปูทะเลให้ปล่อยไข่นอกกระดอง

เลี้ยงแม่ปูขาวไข่แก่ในกระดองระยะที่ 3-4 ในโรงผลิตแม่พันธุ์ในระบบน้ำหมุนเวียน โดยใช้ถังพลาสติกกลมสีดำ ขนาด 117 ลิตร จำนวน 20 ถัง (เส้นผ่านศูนย์กลาง 55 เซนติเมตร x สูง 63 เซนติเมตร) ถังละ 1 ตัว รองพื้นถังด้วยทรายหนา 5 เซนติเมตร ปริมาตรน้ำในถัง 70 ลิตร มีทางน้ำเข้า-ออกทุกถัง มีระบบกรองน้ำรวมโดยใช้ลูกบอลชีวภาพ (Bio-ball) ช่วยในการกรอง อัตราการไหลของน้ำในถังเลี้ยง 0.81 ± 0.08 ลิตร/นาที น้ำที่ใช้เลี้ยงมีความเค็ม 32-35 ppt ความเป็นด่างไม่ต่ำกว่า 120 mg/l และอุณหภูมิของน้ำ 27-30 °C ใช้หอยแครงเป็นอาหารเลี้ยงแม่พันธุ์ ในอัตรา 3-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว โดยให้อาหารในช่วงเวลา 17.00 น. ของทุกวัน เก็บอาหารที่เหลือในวันรุ่งขึ้นพร้อมตรวจสอบการมีไข่นอกกระดองทุก ๆ วัน เมื่อพบ

แม่ปูไข่นอกกระดอง ย้ายแม่ปูดังกล่าวไปยังถังพักขนาด 280 ลิตร โดยไม่มีทรายรองพื้น เปลี่ยนถ่ายน้ำ 70-80 เปอร์เซ็นต์ ทุก ๆ 3 วัน ให้อาหารสดเป็นอาหารในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว ช่วง 17.00 น. เก็บอาหาร ดูตะกอนและไข่เสียทุกวัน

2. การศึกษาระยะพัฒนาการของไข่ เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรไข่นอกกระดอง

ศึกษาระยะพัฒนาการของไข่นอกกระดอง เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของไข่นอกกระดองทุก ๆ วัน ตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 11 หลังจากแม่ปูมีไข่นอกกระดอง โดยใช้ปากคีบสุ่มไข่ปูตัวละ 60 ฟอง จากแม่ปูที่มีไข่นอกกระดอง จำนวน 93 ตัว ถ่ายภาพพัฒนาการของไข่ โดยใช้กล้อง Nikon E200 ผ่านกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้โปรแกรม NIS-Elements D 4.50.00 64-bit และวัดข้อมูลเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนที่กว้างสุด (LA) และ เส้นผ่านศูนย์กลางส่วนที่แคบสุด (SA) ของไข่ปู เพื่อใช้คำนวณหาค่า เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (Mean diameter) และปริมาตร (Volume) ตามวิธีของ Pinheiro & Hattori (2003) และ Garcia-Guerrero & Hendrickx (2006)

$$\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (Mean diameter: } \mu\text{m)} = (LA+SA)/2 \quad (1)$$

$$\text{ปริมาตรของไข่เฉลี่ย (Volume; } \mu\text{m}^3) = 4/3(\pi r^2 R) \quad (2)$$

LA คือ Length of larger diameter หรือเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนที่กว้างที่สุดของไข่ (μm)

SA คือ Length of smaller diameter หรือเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนแคบที่สุดของไข่ (μm)

r คือ รัศมีที่คิดจากเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนที่แคบสุด (μm) = SA/2

R คือ รัศมีที่คิดจากเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนที่กว้างสุด (μm) = LA/2

3. เปรียบเทียบขนาดของไข่ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลาง ปริมาตรของไข่นอกกระดองกับระยะเวลาในการพัฒนาของไข่

ศึกษาความแปรปรวนของขนาดและปริมาตรของไข่นอกกระดองในแต่ละวัน ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และการเปรียบเทียบพหุคูณเพื่อดูความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.05$) (Garcia-Guerrero & Hendrickx, 2006; Landau & Everitt, 2003) รวมทั้งหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ปริมาตรของไข่นอกกระดอง กับระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ โดยการวิเคราะห์สมการถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple linear regression) (Davis *et al.*, 2004)

ผลการวิจัย

1. พัฒนาการ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของไข่นอกกระดอง

จากการศึกษาพัฒนาการของไข่นอกกระดองโดยใช้แม่พันธุ์ปูขาว (*S. paramamosain*) จำนวน 93 ตัว ที่มีความกว้างของกระดองเฉลี่ย 120.88 ± 9.46 มิลลิเมตร ความยาวของกระดองเฉลี่ย 84.45 ± 6.53 และน้ำหนักเฉลี่ย 355.02 ± 85.78 กรัม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของไข่นอกกระดองในแต่ละวัน อยู่ในช่วง 348.71-437.16 ไมโครเมตร และ 21.51×10^6 - 42.91×10^6 ลูกบาศก์ไมโครเมตร ขนาดของไข่ในแต่ละวันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยค่าเส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของไข่เฉลี่ย ในวันที่ 11 มีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (Table 1) พัฒนาการของคัพภะแบ่งออกเป็น 6 ระยะ ประกอบด้วย ระยะคลีเวจ ระยะบลาสตูลา ระยะแกสตรูลา ระยะเกิดจุดตาและเม็ดสี ระยะการสร้างส่วนนอกและลำตัว และระยะการเต้นของหัวใจ-ก่อนฟักไข่ ตามลำดับ โดยระยะการพัฒนาของไข่นอกกระดอง สรุปได้ดังนี้ (Figure 1-2)

1) ระยะคลีเวจ (Cleavage stage) ไข่นอกกระดองมีลักษณะเป็นกลมรี (Figure 1a) เส้นผ่านศูนย์กลางไข่เฉลี่ย 348.71 ± 15.85 ไมโครเมตร ปริมาตรของไข่แดงเต็มฟองไข่ มองเห็นเป็นสีเหลือง พบได้ตั้งแต่วันแรกของไข่นอกกระดอง ไข่มีสีเหลืองหรือสีส้ม

2) ระยะบลาสตูลา (Blastula stage) เซลล์ไข่เริ่มมีการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้น (Figure 1b) เริ่มเห็นเป็นช่องว่างใสภายในเซลล์บริเวณด้านข้างของเซลล์ ระยะนี้อยู่ในวันที่ 2 ของไข่นอกกระดอง ไข่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 353.35 ± 17.42 ไมโครเมตร

3) ระยะแกสตรูลา (Gastrula stage) เซลล์ไข่เริ่มมีการพัฒนามากขึ้น (Figure 1c-d) ภายในไข่เกิดช่องว่าง บริเวณช่องว่างสังเกตเห็นเนื้อเยื่อใส ๆ มีการรวมตัวของไข่แดงอยู่ทางด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ ระยะนี้อยู่ในวันที่ 3-4 ของไข่นอกกระดอง ไข่มีสีเหลืองเข้ม

4) ระยะเกิดจุดตาและเม็ดสี (Eyespot-pigmentation stages) เห็นช่องว่างภายในไข่อย่างชัดเจน (Figure 1e- Figure 2f) มีจุดสีแดงเล็ก ๆ 2 จุด ลักษณะเป็นเส้นยาววาวรี เป็นจุดสีของตา ตรงบริเวณตำแหน่งเกือบกึ่งกลางของเซลล์ พบในวันที่ 5-6 ของไข่นอกกระดอง ไข่มีสีเหลืองน้ำตาล

5) ระยะการสร้างส่วนนอกและลำตัว (Thoracico-abdominal stages) เห็นดวงตาชัดเจนขึ้น (Figure 2g) มีการพัฒนาของออร์แกนในส่วนนอกและลำตัว ไข่เปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล พบในวันที่ 7 ของไข่นอกกระดอง

6) ระยะการเต้นของหัวใจและก่อนฟักไข่ (Heartbeat-prehatching stages) เห็นตาเป็นสีดำอย่างชัดเจน (Figure 2h-j) พบการเต้นของหัวใจ สังเกตเห็นส่วนหัว ออก ท้องและหาง อย่างชัดเจน ปริมาตรของไข่แดงลดลงก่อนที่ตัวอ่อนจะเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างชัดเจน สีของไข่เป็นสีเทาและค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีดำ พบในวันที่ 8-11 ของไข่นอกกระดอง



Table 1 Egg development, egg diameter, and egg volume of berried female mud crab (*Scylla paramamosain*)

Embryonic development stage	Day	Egg diameter (μm)	Egg volume ($\times 10^6 \mu\text{m}^3$)	Number of eggs*
Cleavage stage	1	348.71 ± 15.85^a	21.51 ± 3.04^a	5,550
Blastula stage	2	353.35 ± 17.42^b	22.33 ± 3.39^b	5,570
Gastrula stage	3	358.92 ± 19.02^c	23.41 ± 3.85^c	5,535
	4	364.66 ± 18.13^d	24.66 ± 3.77^d	5,498
Eyespot-pigmentation stages	5	372.28 ± 18.33^e	26.30 ± 4.00^e	5,487
	6	382.30 ± 18.16^f	28.55 ± 4.14^f	5,407
Thoracico-abdominal stages	7	396.81 ± 19.21^g	31.98 ± 4.77^g	5,310
Heartbeat-prehatching stages	8	412.38 ± 19.10^h	35.97 ± 5.12^h	5,196
	9	425.58 ± 17.69^i	39.55 ± 5.08^i	4,555
	10	432.34 ± 16.23^j	41.46 ± 4.74^j	3,660
	11	437.16 ± 16.76^k	42.91 ± 5.00^k	900

Note: Different superscripts in the same column showed significant differences ($p < 0.05$)

*Some non-fertile or non-viable eggs were set as missing values.

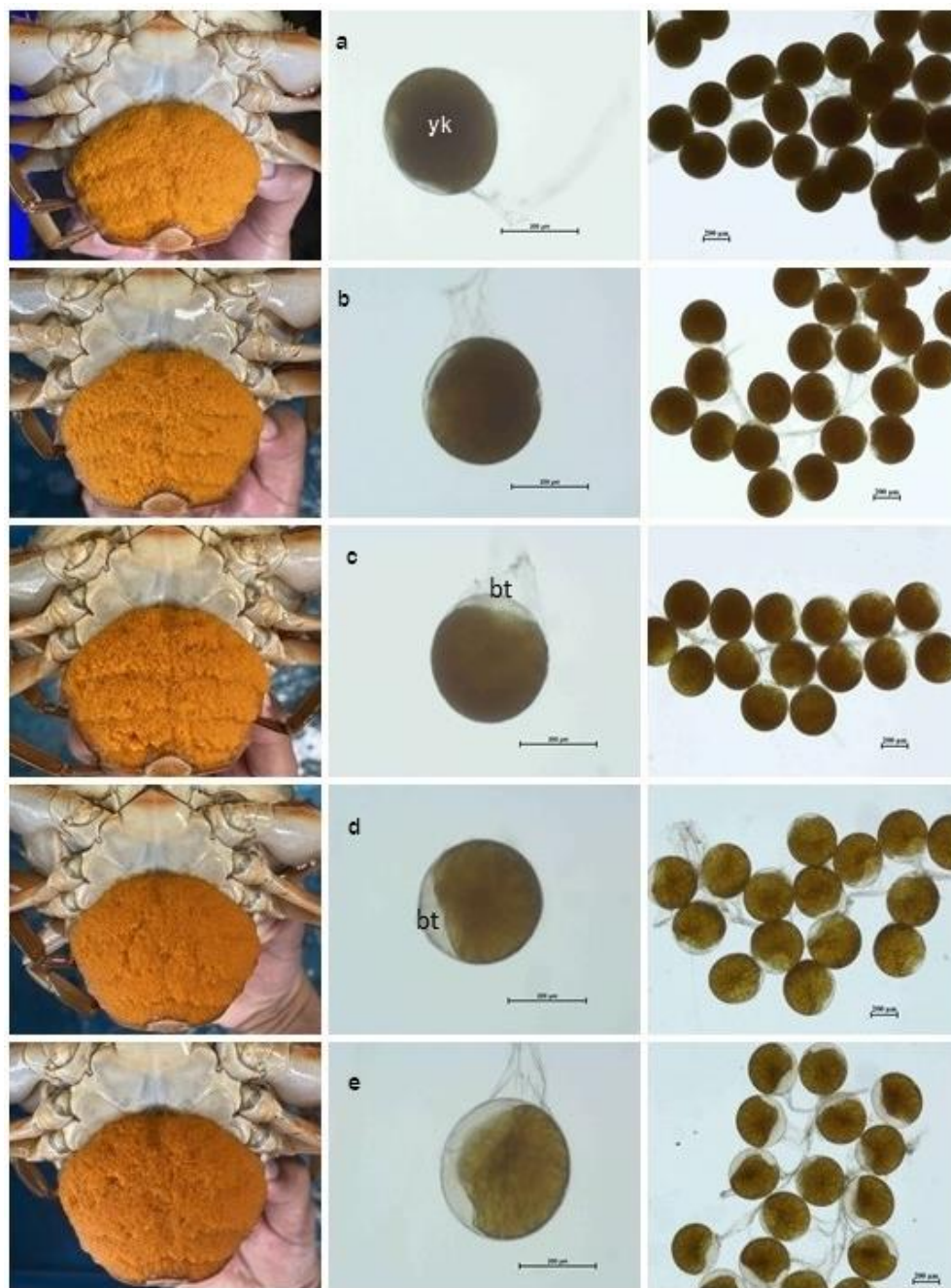


Figure 1 Embryonic development during day 1-5 of *Scylla paramamosain* incubated in a water recirculation broodstock housing system. (a) Cleavage stage; (b) Blastula stage; (c-d) Gastrula stage; (e) Eyespot-pigmentation stages. yk: yolk, bt: blastocoel

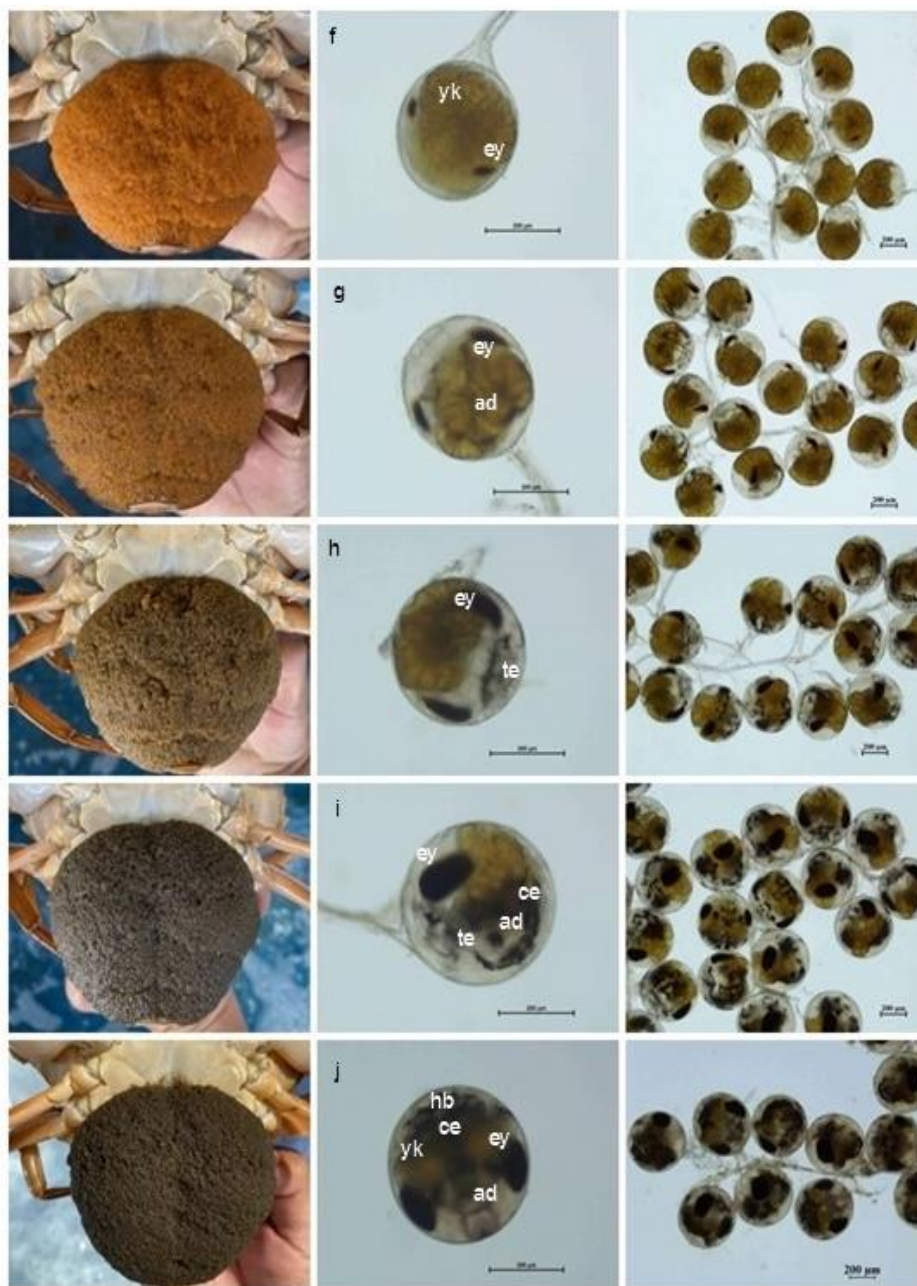
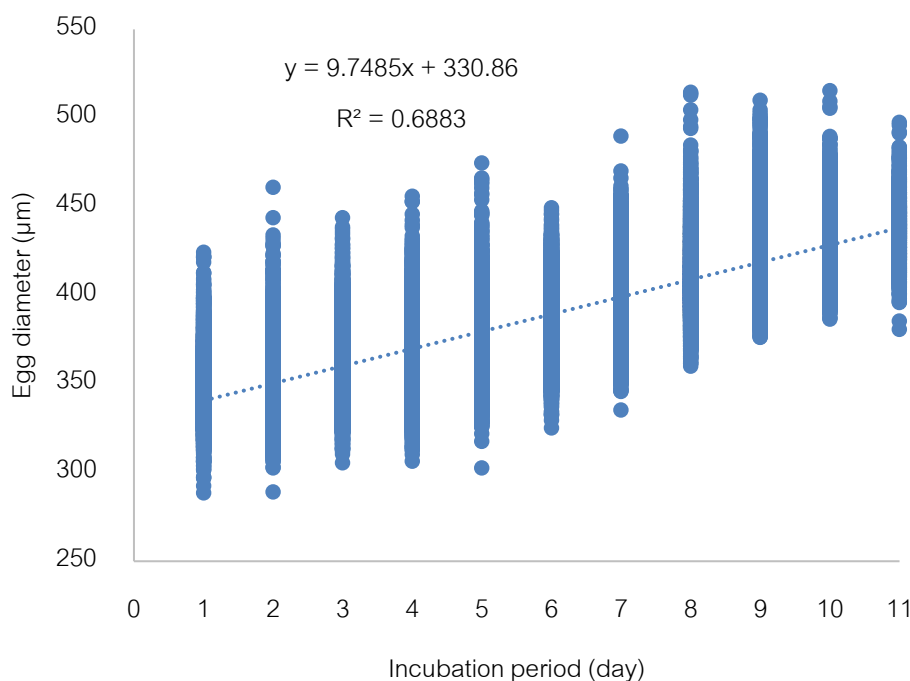


Figure 2 Embryonic development during day 6-10 of *Scylla paramamosain* incubated in a water recirculation broodstock housing system. (f) Eyespot-pigmentation stages; (g) Thoracico-abdominal stages; (h-j) Heartbeat and prehatching stages. yk: yolk, ey: eye, te: telson, ce: cephalothorax, ad: abdomen, hb: heartbeat

2. ความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลาง ปริมาตรของไข่นอกกระดอง กับระยะเวลาในการพัฒนาของไข่

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางไข่ ปริมาตรของไข่นอกกระดอง กับระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ จากแม่ปูขาว 93 ตัว พบว่า เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของไข่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ โดยระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ตั้งแต่วันที่ไข่มีไข่นอกกระดองจนกระทั่งฟักเป็นลูกปู อยู่ในช่วง 9-11 วัน ที่ความเค็มของน้ำ 32-35 ppt และอุณหภูมิ 27-30 °C เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่เฉลี่ยในช่วง 348.71±15.85 - 437.16±16.76 ไมโครเมตร และปริมาตรไข่เฉลี่ยอยู่ในช่วง 21.51±3.04 ×10⁶ - 42.91±5.00 ×10⁶ ลูกบาศก์ไมโครเมตร โดยระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ (X; วัน) มีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ (Y; µm) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p<0.01) อธิบายโดยสมการ $Y = 9.7485X + 330.86$ (n=52,668) มีค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (R²) เท่ากับ 68.83% (Figure 3) และระยะเวลาในการพัฒนาของไข่ (X; วัน) มีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับปริมาตรไข่ (Y; x 10⁶ µm³) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p<0.01) อธิบายโดยสมการ $Y = 2.3088X + 16.811$ (n=52,668) มีค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ เท่ากับ 68.28% (Figure 4)



3. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของไข่กับเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่นอกกระดอง

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรกับเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่นอกกระดอง จากแม่ปูขาว 93 ตัว พบว่า ปริมาตรของไข่เพิ่มขึ้นตามเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่นอกกระดอง โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ (X ; μm) สามารถอธิบาย ปริมาตรไข่ (Y ; $\times 10^6 \mu\text{m}^3$) ได้ในระดับที่มีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) โดยสมการ $Y = 0.2354X - 61.00$ ($n=52,668$) มีค่า สัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจเท่ากับ 98.01% (Figure 5)

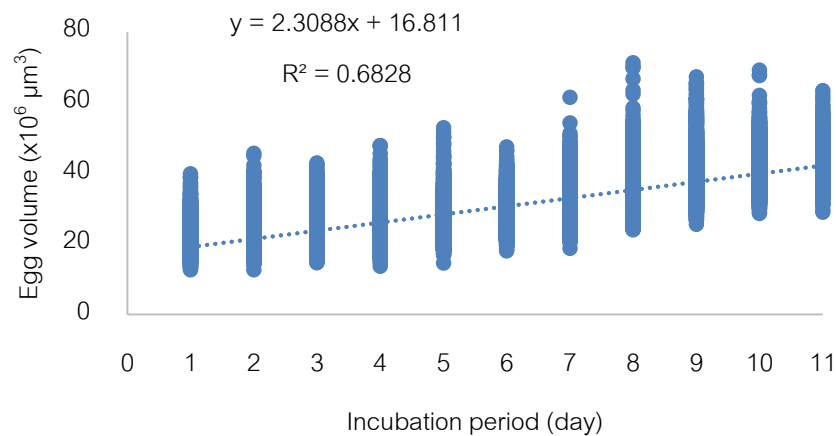


Figure 4 Relationship between incubation period and egg volume of berried female *Scylla paramamosain* incubated in a recirculation broodstock housing system

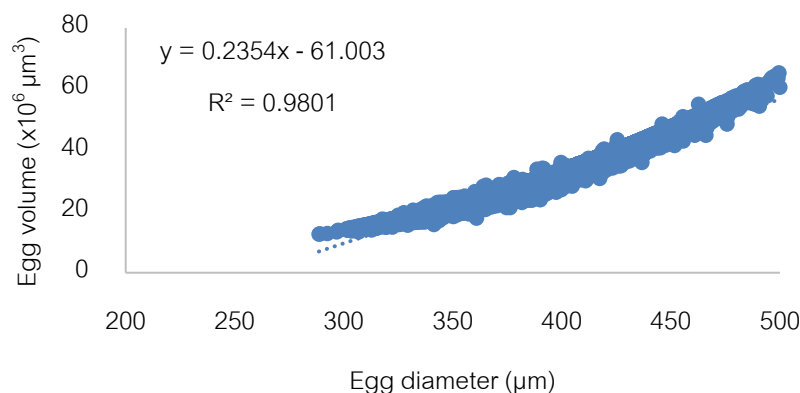


Figure 5 Relationship between egg diameter and egg volume of berried female *Scylla paramamosain* incubated in a recirculation broodstock housing system

วิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษาพัฒนาการไข่นอกกระดองของแม่ปูขาว (*Scylla paramamosain*) ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 32-35 ppt และอุณหภูมิ 27-30 °C สอดคล้องกับการศึกษาของ Samuel & Soundarapandian (2010) ที่แบ่งระยะการพัฒนาของไข่นอกกระดองของปู *S. serrata* ออกเป็น 5 ระยะคือ 1) บลาสตูลา (Blastula) 2) แกสตรูลา (Gastrula) 3) การเกิดจุดตา (Eye placode) 4) เกิดเม็ดสี (Pigment) และ 5) ระยะการเต้นของหัวใจ (Heartbeat) โดยไม่ได้รวมระยะคลีเวจ (Cleavage) อย่างไรก็ตาม ระยะการพัฒนาของคัพพะของปูเขียว ปูดำ และปูม่วง แบ่งได้ถึง 10 ระยะ เนื่องจากการเรียกชื่อระยะที่ต่างกัน เช่น การแยกระยะ Heartbeat และ Prehatching ออกจากกัน เป็นต้น (Ates *et al.*, 2012) ระยะเวลาในการพัฒนาจากเริ่มมีไข่นอกกระดองจนฟักเป็นตัวอ่อนระยะซูเอีย (Zoea) อยู่ในช่วง 9-11 วัน

เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่และปริมาตรไข่เฉลี่ยในวันแรก เท่ากับ 348.71 ± 15.85 ไมโครเมตร และ $21.51 \pm 3.04 \times 10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร ตามลำดับ เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่เฉลี่ย ในวันที่ 9 10 และ 11 เท่ากับ 425.58 ± 17.69 , 432.34 ± 16.23 และ 437.16 ± 16.76 ไมโครเมตร ตามลำดับ และปริมาตรไข่เฉลี่ย เท่ากับ $39.55 \pm 5.08 \times 10^6$, $41.46 \pm 4.74 \times 10^6$ และ $42.91 \pm 5.00 \times 10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร ตามลำดับ เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่นิวในวันแรกและวันก่อนฟักเป็น ซูเอีย (วันที่ 8) ของการศึกษานี้มีค่าต่ำกว่าค่าดังกล่าว ซึ่งรายงานโดย Li *et al.*, (2022) ว่า เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของไข่จากแม่พันธุ์ปูขาว ที่เลี้ยงในโรงเพาะฟักในวันแรก 298.94 ± 6.97 ไมโครเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยก่อนฟักเป็นซูเอีย (วันที่ 9) เท่ากับ 377.75 ± 4.63 ไมโครเมตร โดยมีระยะเวลาในการพัฒนาของไข่นิวฟักเป็นซูเอียเท่ากับ 9-11 วัน ที่อุณหภูมิ 28-31°C ความเค็มของน้ำ 26-30 ppt เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่นิวจากการศึกษาครั้งนี้มีขนาดใหญ่กว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่นิวปูดำ (*S. olivacea*) จากการรายงานโดย Ikhwanuddin *et al.*, (2015) ที่พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่นิวออกกระดองวันแรกเท่ากับ 329.91 ± 6.62 ไมโครเมตร และก่อนฟักเป็นซูเอีย (วันที่ 8) มีค่าเท่ากับ 377.26 ± 11.50 ไมโครเมตร โดยเลี้ยงปูในน้ำความเค็ม 30-35 ppt และอุณหภูมิ 28-30 °C

เส้นผ่านศูนย์กลางไข่เฉลี่ยของปูขาว จากวันแรกจนกระทั่งก่อนฟักซูเอียในการศึกษานี้อยู่ในช่วง 348.71 ± 15.85 - 437.16 ± 16.76 ไมโครเมตร มีขนาดใหญ่กว่าปูชนิดอื่น ๆ ซึ่ง Ates *et al.*, (2012) รายงานการศึกษาในปูเขียว (*S. serrata*) ปูม่วง (*S. tranquebarica*) และ ปูดำ (*S. olivacea*) ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางไข่เฉลี่ยอยู่ในช่วง 281-354, 276-347 และ 275-343 ไมโครเมตร ตามลำดับ

ระยะเวลาในการพัฒนาของไข่นิวออกกระดองจนฟักเป็นซูเอียของปูขาวในการศึกษานี้อยู่ในช่วง 9 -11 วัน ในน้ำความเค็ม 32-35 ppt และอุณหภูมิ 27-30 °C ใกล้เคียงกับระยะเวลาในการพัฒนาของไข่นิวออกกระดองของปู *S. serrata*, *S. tranquebarica* และ *S. olivacea* ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.30 ± 0.30 , 8.7 ± 0.60 และ 8.60 ± 0.20 วัน ตามลำดับ โดยอุณหภูมิเฉลี่ยในการเลี้ยง 28-30 °C และความเค็ม 30-35 ppt (Ates *et al.*, 2012) ซึ่งถือว่ามีสภาพแวดล้อมใกล้เคียงกับการศึกษานี้ อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลให้เซลล์ไข่มีการพัฒนาเร็วขึ้น ดังรายงานของ Hidir *et al.*, (2022) ที่พบว่าระยะเวลาในการพัฒนาของไข่นิวออกกระดองจนฟักเป็นซูเอียของ *S. tranquebarica* ที่อุณหภูมิ 26°C ใช้เวลา 13.60 วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 32°C ใช้เวลา 7 วัน

ส่วนระยะเวลาในการพัฒนาของไขปนอกกระดองในระดับอุณหภูมิอื่น ๆ Zeng (2007) รายงานพัฒนาการของไขปนุขาวในหลอดทดลอง ณ อุณหภูมิ 10 และ 35 °C การแบ่งเซลล์ของไขจะผิดปกติ ที่อุณหภูมิ 20 °C มีระยะเวลาในการพัฒนาของไขกระทั่งฟักตัวเป็น ชูเอียประมาณ 1 เดือน ขณะที่อุณหภูมิ 25 °C มีระยะเวลาในการพัฒนาจนฟักเป็นชูเอีย 15 วัน และที่อุณหภูมิ 30 °C มีระยะเวลาในการพัฒนาจนฟักเป็นชูเอีย 9 วัน ส่วน Hamasaki (2002) กล่าวว่าไขนอกกระดองของปูขาวที่อุณหภูมิ 18 °C พัฒนาได้ถึงระยะก่อนฟักเป็นชูเอีย แต่ไม่ฟักเป็นตัว Davis *et al.*, (2004) รายงานว่าปู *S. serrata* ใช้เวลาในการพัฒนาของไขนอกกระดองจนฟักเป็นตัวชูเอียประมาณ 12 วัน (288 ± 21 ชั่วโมง) ที่ระดับความเค็มน้ำ 30-32 ppt และอุณหภูมิ 27 °C กล่าวสรุปโดยรวมได้ว่า พัฒนาการของไขปนอกกระดองกระทั่งฟักตัวเป็นชูเอีย เกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ในระดับอุณหภูมิ 20-32 °C และความเค็มของน้ำในช่วง 27-35 ppt ระยะพัฒนาของไขนอกกระดองมีค่าน้อยลง เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ในภาวะความเค็มของน้ำที่เหมาะสม

สีของไขปนุขาวนอกกระดองในวันแรกมีสีเหลือง จากนั้นเปลี่ยนตามระยะเวลาในการพัฒนาของไข เป็นสีส้ม สีน้ำตาล สีเทาและสีดำ ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณไขแดงจะค่อย ๆ ลดลงเนื่องจากถูกใช้ในการพัฒนาของไข สอดคล้องกับศึกษาของ Ates *et al.*, (2012) ในปูเขียว ปูม่วง และปูดำ และ การศึกษาของ Xu *et al.*, (2023) ในปูขาว ซึ่งกล่าวว่า สีของไขปนุทะเลจะเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีส้มเข้ม จากนั้นกลายเป็นสีส้มอมเทาอ่อน สีเทาเข้ม และเปลี่ยนเป็นสีดำก่อนฟักเป็นชูเอีย กล่าวโดยสรุป สีของไขและขนาดของไขนอกกระดอง สามารถบ่งบอกถึงการปฏิสนธิของไขกับน้ำเชื้อ การแบ่งเซลล์และการพัฒนาของไข สีของไขที่ได้รับการปฏิสนธิจะเปลี่ยนแปลงในแต่ละวันโดยสังเกตได้ด้วยตาเปล่า เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของไขเพิ่มขึ้นตามระยะการพัฒนาของเซลล์ไข เส้นผ่านศูนย์กลางของไขสามารถคาดการณ์วันที่ไขจะฟักเป็นชูเอียได้ เพื่อเตรียมความพร้อมในการอนุบาลลูกปูในโรงเพาะฟักได้อย่างเหมาะสม

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของไขนอกกระดองกับระยะเวลาในการพัฒนาของไข มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Davis *et al.*, (2004) ซึ่งรายงานว่า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไขนอกกระดองปู *S. serrata* เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการพัฒนาของไขอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) โดยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (Y ; mm) สามารถอธิบายโดยระยะเวลาในการพัฒนา (X ; วัน) ด้วยสมการ $Y = 0.001x^2 + 0.002x + 0.299$ (R^2 91.20 %) โดยค่าประสิทธิภาพในการตัดสินใจมีค่ามากกว่าการศึกษาในครั้งนี้ ($R^2 = 68.83\%$)

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลาง และปริมาตรของไขนอกกระดองในแต่ละวัน ในช่วงพัฒนาการของไข พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยเส้นผ่านศูนย์กลาง และปริมาตรของไขนอกกระดองเพิ่มขึ้นตามจำนวนวันที่เพิ่มขึ้น

สรุปผลการวิจัย

พัฒนาการของไขของแม่พันธุ์ปูขาว (*S. paramamosain*) จำนวน 93 ตัว ที่เลี้ยงในโรงผลิตแม่ปูในระบบหมุนเวียนน้ำ มีระยะการพัฒนาไขนอกกระดอง 6 ระยะ คือ ระยะคลีเวจ ระยะบลาสตูลา ระยะแกสตรูลา ระยะเกิดจุดตาและเม็ดสี ระยะการ

สร้างส่วนอกและลำตัว และระยะการเดินของหัวใจ-ก่อนฟักไข่ ตามลำดับ การพัฒนาของไข่นอกกระดองใช้เวลา 9-11 วัน เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรไข่เฉลี่ยในวันแรกเท่ากับ 348.71 ± 15.85 ไมโครเมตร และ $21.51 \pm 3.04 \times 10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร ตามลำดับ เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่เฉลี่ยในวันที่ 9 10 และ 11 เท่ากับ 425.58 ± 17.69 , 432.34 ± 16.23 และ 437.16 ± 16.76 ไมโครเมตร ตามลำดับ ปริมาตรไข่เฉลี่ยในช่วงวันดังกล่าวเท่ากับ $39.55 \pm 5.08 \times 10^6$, $41.46 \pm 4.74 \times 10^6$ และ $42.91 \pm 5.00 \times 10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร ตามลำดับ ไข่นอกกระดองเริ่มฟักเป็นตัวเมื่อมีสีเทาหรือสีดำและเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ $\geq 412.38 \pm 19.10$ ไมโครเมตร หรือ ปริมาตรของไข่ $\geq 35.97 \pm 5.12 \times 10^6$ ลูกบาศก์ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางและปริมาตรของไข่นอกกระดองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะการพัฒนาของไข้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ (Y ; μm) สามารถอธิบายโดยระยะเวลาในการพัฒนา (X ; วัน) ด้วยสมการ $Y = 9.7485X + 330.86$ ($R^2 = 68.83\%$; $p < 0.01$) ส่วนปริมาตรของไข่ (Y ; $\times 10^6 \mu\text{m}^3$) สามารถอธิบายโดยระยะเวลาในการพัฒนา (X ; วัน) ด้วยสมการ $Y = 2.3088X + 16.811$ ($R^2 = 68.28\%$; $p < 0.01$) นอกจากนี้ ปริมาตรของไข่ สามารถอธิบายโดยเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ ด้วยสมการ $Y = 0.2354X - 61.003$ ($R^2 = 98.01\%$; $p < 0.01$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ที่สนับสนุนค่าธรรมเนียมการศึกษา ระดับบัณฑิตศึกษา ขอขอบคุณโครงการวิจัยการพัฒนาห่วงโซ่การผลิตปูทะเลในพื้นที่ภาคใต้สู่การเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจชนิดใหม่ของประเทศด้วยองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี การตลาดและการมีส่วนร่วมของผู้ได้เสีย ที่สนับสนุนงบประมาณโดยหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนาระดับพื้นที่ (บพท.) และขอขอบคุณกองทุน PSU-TUYF Charitable Trust Fund ที่สนับสนุนทุนการศึกษา ทำให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Ates, M. C. D., Quinitio, G. F., Quinitio, E. T., & Sanares, R. C. (2012). Comparative study on the embryonic development of three mud crabs *Scylla spp.* *Aquaculture Research*, 43(2), 215-225.
- Davis, J. A., Churchill, G. J., Hecht, T., & Sorgeloos, P. (2004). Spawning characteristics of the South African mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) in captivity. *Journal of the World Aquaculture Society*, 35(2), 121-133.
- Department of Fisheries. (2024). *Statistics of sea crabs culture survey 2023*. No. 6/2024. Fishery Statistics Group, Fisheries Development Policy and Planning Division, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. (in Thai)



- Ferdoushi, Z., Xiangguo, Z., & Hasan, M. (2010). Mud crab (*Scylla* sp.) marketing system in Bangladesh. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3(2), 248-265.
- García-Guerrero, M., & Hendrickx, M. E. (2006). Embryology of decapod crustaceans III: Embryonic development of *Euopanopeus canalensis* Abele & Kim, 1989, and *Panopeus chilensis* H. Milne Edwards & Lucas, 1844 (Decapoda, Brachyurur, Panopeidae). *Belgian Journal of Zoology*, 136(2), 249-253.
- Hamasaki, K. (2002). Effects of temperature on the survival, spawning and egg incubation period of overwintering mud crab broodstock, *Scylla paramamosain* (Brachyura: Portunidae). *Aquaculture Science*, 50(3), 301-308.
- Hidir, A., Aaqillah-Amr, M. A., Mohd-Sabri, M., Mohd-Zaidi, I., Shahreza, M. S., Abualreesh, M. H., Peng, T. H., Ma, H., Waiho, K., Fazhan, H., Mukti, A. T., & Ikhwanuddin, M. (2022). Thermal tolerance of purple mud crab, *Scylla tranquebarica* (Fabricius, 1798), during egg incubation, larval rearing and juveniles' production. *Aquaculture Research*, 53, 1481–1491.
- Hill, B. J. (1994). Offshore spawning by the portunid crab *Scylla serrata* (Crustacea: Decapoda). *Marine Biology*, 120(3), 379-384.
- Ikhwanuddin, M., Lan, S. S., Abdul Hamid, N., Fatihah Zakaria, S. N., Azrz, M. N., Abdullah, S. A., & Ambok-Bolong, A. M. (2015). The embryonic development of orange mud crab, *Scylla olivacea* (Herbst, 1796) held in captivity. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(4), 885-895.
- Khan, M., & Weelden, C. V. (2017). Hatchery-based mud crab production at BFRI Paikgacha Station, Bangladesh. *Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit. Bonn and Eschborn, Germany*.
- Kumnerdmanee, M., & Nudee, V. (2022). *Effect of three types of feed on ovarian maturation in mud crabs (Scylla paramamosain Estampador, 1949)*. Technical Paper No.9/2022. Pak Phanang Basin Royal Fisheries Development Center, Coastal Aquaculture Research and Development Division, Department of Fisheries. (in Thai)



- Landau, S., & Everitt, B. S. (2003). *A Handbook of Statistical Analyses Using SPSS*. New York: Chapman and Hall/CRC.
- Li, J., Qiu, W., Hao, H., Chen, F., & Wang, K. J. (2022). Morphology of the complete embryonic and larval development of commercially important mud crab *Scylla paramamosain*. *Aquaculture Research*, 53, 2298–2316.
- Noorbaiduri, S., Abol-Munafi, A. B., & Ikhwanuddin, M. (2014). Acrosome reaction stage of sperm from mud crab, *Scylla olivacea* (Herbst, 1796): mating in wild and in captivity. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 9, 237-244.
- Pinheiro, M. A. A., & Hattori, G. Y. (2003). Embryology of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura: Ocypodidae). *Journal of Crustacean Biology*, 23(3), 729-737.
- Samuel, N. J., & Soundarapandian, P. (2010). Embryology of commercially important portunid crab *Scylla serrata* (Forsk.). *Asian Journal of Biological Sciences*, 1(1), 178-82.
- Xu, L. K., Ma, K. Y., Zhang, F. Y., Wang, W., Ma, L. B., Jin, Z. W., & Liu, Z. Q. (2023). Observations on the embryonic development of the mud crab, *Scylla paramamosain*. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1296509.
- Zeng, C. (2007). Induced out of season spawning of the mud crab, *Scylla paramamosain* (Estampador) and effects of temperature on embryo development. *Aquaculture Research*, 38(14), 1478-1485.