หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด แต่เนื่องจากอยู่ในเขตร้อนมีฝนตกชุกอากาศไม่ร้อนจัดหรือหนาวจัดจึงทำให้มีการระบาดของศัตรูพืชอย่างกว้างขวาง แมลงเป็นศัตรูพืชที่สำคัญ การป้องกันกำจัดนิยมใช้สารเคมีซึ่งย่อมมีผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบันมีการนำเข้าวัตถุมีพิษจากต่างประเทศเป็นจำนวนมากถึง 204 ชนิด เป็นสารป้องกันกำจัดแมลง 116 ชนิด (อดุล วรวิศิษฏ์ธำรง และสุปราณี อิ่มพิทักษ์, 2528) สารไดฟลูเบนซูรอน (diflubenzuron) เป็นสารเคมีใช้ฆ่าแมลงจดทะเบียนอยู่ในความควบคุมของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ประเภทวัตถุมีพิษธรรมดาซึ่งอยู่ในระดับที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซนต์ที่ปริมาณสารมากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักของสัตว์ทดลอง 1 กิโลกรัม (acute oral LD_{50} > 50 mg/kg) แนวโน้มการใช้สารไดฟลูเบนซูรอนมีมากขึ้นเป็นลำดับจาก พ.ศ.2524 ถึง พ.ศ. 2527 มีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 10 เท่า (วัตถุมีพิษที่นำหรือสั่งเข้ามาในราชอาณาจักร พ.ศ. 2524 - 2527) คุณสมบัติที่สำคัญของสารไดฟลูเบนซูรอนคือมีผลกระทบต่อการสร้างไคติน (chitin) ในเปลือกแมลง

การค้นพบสารที่ยับยั้งการสร้างไคตินได้เป็นผลสำเร็จส่วนหนึ่งในการพัฒนายาฆ่าแมลงให้ลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมลงได้อีกระดับหนึ่ง เนื่องจากสารไดฟลูเบนซูรอนจะไปมีผลต่อเปลือกของแมลงหรือสัตว์ที่มีการสร้างไคตินเท่านั้น (Marx, 1977) ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นที่ยอมรับกันว่าสารไดฟลูเบนซูรอนเป็นยาฆ่าแมลงที่ปลอดภัยกว่ายาฆ่าแมลงในอดีตซึ่งนอกจากจะมีผลต่อแมลงแล้วยังมีผลต่อปลา นก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอีกด้วย ในประเทศสหรัฐอเมริกาได้จดทะเบียนการค้าสารไดฟลูเบนซูรอนในชื่อว่าดิมมิลิน (Dimilin®) โดยบริษัท Thompson Hayward Chemical Company และยาฆ่าแมลงชนิดนี้ได้เผยแพร่ไปยังประเทศในแถบยุโรป อียิปต์ และประเทศอื่น ๆ อีกหลายประเทศ (Verloop and Ferrell, 1977) รวมทั้งประเทศไทยซึ่งมีบริษัทนำเข้าสารไดฟลูเบนซูรอนหลายราย เช่น สหายเกษตร เทพวัฒนา และเสรีเคมี เป็นต้น โดยสั่งจากประเทศเนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา

อย่างไรก็ตามสารไคตินไม่ได้มีเฉพาะในสัตว์จำพวกแมลงเท่านั้นแต่ยังพบในเปลือกของสัตว์ไฟลัมอาร์โทรปอดทั้งหมด นอกจากบริเวณเปลือกแล้วไคตินยังปกคลุมบนเยื่อบุกระเพาะอาหาร เยื่อบุลำไส้ ทางเดินหายใจ และเหงือกของสัตว์บางชนิดในไฟลัมนี้ (Yonge, 1932) โดยเฉพาะสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน (crustaceans) ซึ่งมีความสำคัญทั้งทางด้านเศรษฐกิจได้แก่ กุ้งและปู ทางด้านห่วงโซ่อาหาร (food chain) ได้แก่พวกที่เป็นแพลงค์ตอนสัตว์ในทะเลซึ่งเป็นส่วนที่เชื่อมระหว่างผู้ผลิตและผู้บริโภคระดับสูง (Odum, 1971) ดังนั้นหากสารไดฟลูเบนซูรอนมีการกระจายปะปนเข้าไปอยู่ในสิ่งแวดล้อมนอกจากจะทำให้ประชากรสัตว์ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจลดลงแล้วยังอาจจะทำให้ระบบนิเวศน์เสียสมดุลย์ด้วย นักวิทยาศาสตร์ในต่างประเทศได้ตระหนักถึงข้อเท็จจริงดังกล่าวจึงได้ศึกษาผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อครัสเตเชียนชนิดต่าง ๆ พบว่ามีความเป็นพิษรุนแรงมากดังจะกล่าวถึงในส่วนหลังของเอกสารนี้

การที่ประเทศไทยมีปริมาณการใช้สารไดฟลูเบนซูรอนเพิ่มมากขึ้นทุก ๆ ปีจึงสมควรมีการศึกษาวิจัยเพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานมาประกอบการพิจารณาให้มีการใช้สารไดฟลูเบนซูรอนอย่างระมัดระวังเพื่อจะได้ไม่เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะบริเวณชายฝั่งซึ่งมีการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลถึง 222,107 ไร่ (สถิติประมงทะเล 2526, 2529) โดยต้องใช้น้ำทะเลปริมาณมากในการเลี้ยงกุ้ง ในการวิจัยครั้งนี้ได้เลือกกุ้งแชบ๊วยเป็นสัตว์ทดลองเพราะกุ้งแชบ๊วยเป็นสัตว์ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจสูงและไวต่อการตอบสนองสารพิษ (ปรีชา สมมณี, 2523) เนื่องจากสารไดฟลูเบนซูรอนมีผลต่อไคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบของเปลือกดังนั้นจึงได้เน้นศึกษาผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อโครงสร้างเปลือกของกุ้งแชบ๊วยในระยะต่าง ๆ ของรอบการลอกคราบ

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. เพื่อศึกษาเวลาของรอบการลอกคราบในกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อน (post larva) ขนาดความยาว (total length) ประมาณ 10 มิลลิเมตร ($P_{10} - P_{15}$)
2. เพื่อศึกษาโครงสร้างเปลือกกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อนในระยะต่าง ๆ ของรอบการลอกคราบด้วยกล้องจุลทัศน์ธรรมดาและกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่าน
3. เพื่อหาความเข้มข้นของสารไดฟลูเบนซูรอนที่มีผลต่อการลอกคราบของกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อน
4. เพื่อศึกษาผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อโครงสร้างเปลือกกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อนในระยะต่าง ๆ ของรอบการลอกคราบด้วยกล้องจุลทัศน์ธรรมดาและกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่าน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงข้อมูลพื้นฐานระยะเวลาของรอบการลอกคราบ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะต่าง ๆ ในรอบการลอกคราบของกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อน Penaeus merquiensis de Man ซึ่งเป็นชนิดที่มีอยู่ในประเทศไทยเพื่อการวิจัยขั้นประยุกต์ต่อไป
2. ทำให้ทราบถึงระดับความเข้มข้นของสารไดฟลูเบนซูรอนที่มีผลต่อการลอกคราบของกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อนและผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อโครงสร้างเปลือกกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อนในระยะต่าง ๆ ของรอบการลอกคราบในระดับกล้องจุลทัศน์ธรรมดาและกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่าน
3. สามารถนำข้อมูลผลระดับความเข้มข้นของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อนไปประกอบการพิจารณาให้มีการใช้สารไดฟลูเบนซูรอนอย่างถูกต้องเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมในอนาคต

การสำรวจเอกสาร

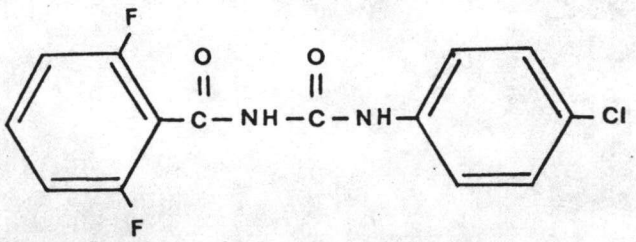
ก. สารไดฟลูเบนซูรอน

1. ประวัติความเป็นมา

ในปีค.ศ. 1972 Van Daalen และคณะซึ่งเป็นนักวิทยาศาสตร์ของบริษัท Philips-Duphar, The Netherland ได้สังเคราะห์สารใกล้เคียงกับ Dichlorobenil ซึ่งเป็นยาฆ่าวัชพืชขึ้นมาชนิดหนึ่งคือ Du19111 [1-(2, 6 dichlorophenyl) -3- (3, 4-dichlorophenyl) urea] พบว่าไม่มีผลต่อพืชแต่กลับไปมีผลต่อแมลงวัยอ่อนหลายชนิด และจากการสังเกตพบว่าสารนี้สัมพันธ์กับการลอกคราบของแมลงเพราะแมลงจะไม่ตายทันทีแต่จะแสดงอาการเมื่อถึงระยะการลอกคราบ เมื่อมีการเผยแพร่ผลดังกล่าวของสาร Du19111 จึงเกิดการสังเคราะห์สารใกล้เคียงขึ้นมาหลายชนิด (Wellinga et al., 1973a และ b) พบว่าสารไดฟลูเบนซูรอน [1-(4- chlorophenyl)-3-(2, 6-difluorobenzoyl) urea] เป็นสารที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุดเพราะมีผลต่อแมลงวัยอ่อนหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ (Duphar B.V. และ Unjitwatana, 1981) และสลายตัวได้เร็วในสิ่งแวดล้อม (Verloop and Ferrell, 1977) จึงเริ่มจดทะเบียนการค้าในประเทศสหรัฐอเมริกาและเผยแพร่ไปยังประเทศต่าง ๆ รวมทั้งประเทศไทยด้วย

2. <u>คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี</u>

ไดฟลูเบนซูรอนเป็นชื่อสามัญ (Common name) มีชื่อทางการค้าว่าดิมมิลิน (Dimilin®) ส่วนชื่อทางเคมี (Chemical name) คือ 1-(4-Chlorophenyl)-3-(2, 6-difluorobenzoyl) urea สารตัวนี้ใช้รหัส PH60-40, Th6040, ENT-29054, OMS1804, POD6040I และ DU112307 มีสูตรโครงสร้างดังแผนภาพที่ 1



แผนภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของสารไดฟลูเบนซูรอน

ไดฟลูเบนซูรอนมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว น้ำหนักโมเลกุล 310.7 เป็นสารที่ไม่ระเหยมีจุดหลอมเหลวสูงอยู่ในช่วง 230-232 องศาเซลเซียส ไดฟลูเบนซูรอนละลายน้ำได้น้อยเพียง 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรแต่จะละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ได้มากกว่าเช่นในอะซิโตน (Acetone) ละลายได้ 6.5 กรัมต่อลิตร การสลายตัวของไดฟลูเบนซูรอนขึ้นอยู่กับสภาวะต่าง ๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น ถ้าให้แสงตลอดเวลา 162 ชั่วโมงที่ pH 5.6 ไดฟลูเบนซูรอนในน้ำจะสลายตัวไป 46 เปอร์เซนต์ หากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 1 สัปดาห์จะสลายตัวน้อยกว่า 0.5 เปอร์เซนต์แต่ที่ 100 องศาเซลเซียสจะสลายตัว 0.5 เปอร์เซนต์ภายในเวลา 1 วัน และที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสที่ pH 5, 7 และ 9 ในเวลา 3 สัปดาห์มีการสลายตัว 4, 8 และ 26 เปอร์เซนต์ตามลำดับ (Duphar B.V.)

3. <u>ความคงตัวในสิ่งแวดล้อม</u>

จากรายงานของบริษัท Philips-Duphar การสลายตัวในดินขึ้นกับขนาดอนุภาคของสารไดฟลูเบนซูรอน ถ้าอนุภาคขนาดใหญ่จะสลายตัวช้า เช่น ที่ขนาดอนุภาค 10 ไมครอนมีครึ่งชีวิตอยู่ระหว่าง 8 - 16 สัปดาห์ แต่ที่อนุภาค 2 ไมครอนและในสภาพที่เป็นสารละลายครึ่งชีวิตจะลดลงเป็น 0.5 - 1.0 สัปดาห์ (Verloop et al., 1975 อ้างตาม Verloop and

Ferrell, 1977) อย่างไรก็ดียังเป็นที่โต้เถียงกันอยู่มากสำหรับเวลาการสลายตัวที่ค่อนข้างจะเร็วดังกล่าว (Marx, 1977) จากผลการทดลองของ Metcalf et al. (1975) พบว่าสารไดฟลูเบนซูรอนมีความคงตัวในดินสูงคือมีการสลายตัวเพียง 0.7 เปอร์เซนต์ในเวลา 4 สัปดาห์ และในบทความของ Marx (1977) ได้กล่าวไว้ว่า Booth ได้วัดครึ่งชีวิตของสารไดฟลูเบนซูรอนในดินพบว่ามีเวลาประมาณ 1 เดือน ข้อแตกต่างดังกล่าวทาง Philips-Duphar ได้อธิบายว่าการทดลองมีสภาวะที่ต่างกัน ที่ Metcalf และคณะทดลองนั้นได้ใช้สารอะซิโตนละลายสารไดฟลูเบนซูรอนแล้วฉีดลงบนดินเพื่อวัดการสลายตัว แต่สารไดฟลูเบนซูรอนอาจจะตกผลึกอีกครั้งและมีอนุภาคขนาดใหญ่กว่า 10 ไมครอนทำให้การสลายตัวกินเวลานาน และได้กล่าวเพิ่มเติมว่าสำหรับอนุภาคที่ใช้ทางการค้าอยู่ระหว่าง 1 - 5 ไมครอนโดยมีค่าเฉลี่ยที่ 2 ไมครอน (Verloop and Ferrell, 1977)

การสลายตัวในดินของสารไดฟลูเบนซูรอนมีจุลินทรีย์เป็นส่วนสำคัญ (Verloop et al., 1975 อ้างตาม Verloop and Ferrell, 1977) เมื่อสลายตัวในดินเริ่มแรกจะได้ 4-Chlorophenyl urea และ 2, 6-difluorobenzoic acid ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดนี้มีครึ่งชีวิต 5 - 10 สัปดาห์ และ 2 สัปดาห์ ตามลำดับ สำหรับการสลายตัวในน้ำจะดำเนินเหมือนกับในดินโดยจะสลายตัวไป 50 เปอร์เซนต์ในเวลา 6 สัปดาห์ (Duphar B.V.)

ส่วนความคงตัวในพืชนั้นต่างจากในดินเพราะสามารถอยู่ได้นานกว่า สารไดฟลูเบนซูรอนขนาดอนุภาค 2 ไมครอนในเวลา 2 เดือนมีปริมาณที่ยังไม่สลายตัวอยู่ถึง 95 เปอร์เซนต์แต่ไม่มีผลกระทบต่อระบบของพืชเนื่องจากไม่ซึมผ่านผิวใบ (Nimmo, unpublished results อ้างตาม Verloop and Ferrell, 1977) ในด้านความคงตัวในสิ่งมีชีวิต Metcalf et al. (1975) พบว่าสารไดฟลูเบนซูรอนสามารถคงตัวอยู่ในสิ่งมีชีวิต เช่น สาหร่าย หอยฝาเดียว แมลง และตัวอ่อนของยุง และจากการศึกษาในระบบนิเวศน์จำลอง ตัวอ่อนยุงมีการเพิ่มขยายทางนิเวศน์ (ecological magnification) มากกว่าในปลาซึ่งเป็นส่วนยอดของห่วงโซ่อาหารถึง 40 เท่า จึงได้สรุปว่าสารไดฟลูเบนซูรอนไม่มีการสะสมผ่านห่วงโซ่อาหาร

4. <u>ความเป็นพิษต่อแมลง</u>

สารไดฟลูเบนซูรอนมีความเป็นพิษสัมพันธ์กับรอบการลอกคราบเช่นที่ระดับความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตรแมลงจะไม่ตายทันทีแต่จะแสดงอาการเมื่อถึงเวลาลอกคราบ ซึ่งจากการสังเกตอย่างใกล้ชิดขณะที่แมลงกำลังลอกคราบจะเห็นว่าแมลงเคลื่อนไหวอยู่ภายในเปลือกเก่าแต่

ไม่สามารถลอกเปลือกเก่าออกได้ ต่อมาแมลงจะสูญเสียของเหลวภายในลำตัวออกมาเนื่องจากเปลือกใหม่แตก จากนั้นลำตัวค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีดำและตายในท่าที่พยายามจะลอกคราบ ที่ความเข้มข้นต่ำลงมาแมลงอาจลอกคราบได้เพียงบางส่วนและจะตายเนื่องจากไม่สามารถลอกคราบได้หมด (Mulder and Gijswijt, 1973) สำหรับความเป็นพิษของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อแมลงบางชนิดได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ความเป็นพิษของสารไดฟลูเบนซูรอนจะเกิดขึ้นเมื่อมีสารซึมผ่านเข้าทางเดินอาหาร ดังนั้นถ้าฉีดสารลงบนตัวของแมลงแล้วให้กินใบพืชที่ไม่มีสารไดฟลูเบนซูรอน แมลงจะไม่แสดงอาการผิดปกติใดใด (Mulder and Gijswijt, 1973) ยกเว้นในแมลงบางชนิด สารไดฟลูเบนซูรอนสามารถซึมผ่านผิวหนังได้ เช่น หนอนใบฝ้าย Spodoptera littoralis (Duphar B.V.) นอกจากนี้สารไดฟลูเบนซูรอนจะมีผลต่อแมลงวัยอ่อน (larvicide) และไข่แมลง (ovicide) (Mulder and Gijswijt, 1973; Jakob, 1973; Hsieh and Steelman, 1974; Ascher et al., 1980 และ Radwan et.al., 1986) แต่ไม่มีผลต่อแมลงที่โตเต็มวัยแล้ว (Mulder and Gijswijt, 1973) สำหรับความเป็นพิษที่มีต่อไข่แมลงนั้นตัวอ่อนในไข่ของแมลงสามารถพัฒนาไปจนสมบูรณ์เหมือนกับไข่ที่ไม่ถูกสารแต่ตัวอ่อนจะไม่ฟักเป็นตัวและจะตายอยู่ภายในเปลือก และไข่ของตัวแม่ที่กินสารไดฟลูเบนซูรอนจะเกิดพิษเหมือนกับไข่ที่ถูกสารไดฟลูเบนซูรอนโดยตรง (Grosscurt, 1978 and Ascher, 1980) นอกจากนี้สารไดฟลูเบนซูรอนยังสามารถใช้ควบคุมจำนวนประชากรของแมลงศัตรูพืชบางชนิดโดยมีฤทธิ์ทำให้แมลงเป็นหมันได้ (Chemosterilization) (Moore and Taft, 1975 และ Taft and Hopkins, 1975)

5. กลไกการออกฤทธิ์

จากการที่สารไดฟลูเบนซูรอนมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างเปลือกของแมลงวัยอ่อนในลักษณะที่ทำให้ชั้น endocuticle ผิดปกติ โดยเนื้อเยื่อจะถูกแทนที่ด้วยโครงสร้างที่มีลักษณะกลม (globular particles) และถ้าให้สารไดฟลูเบนซูรอนเป็นเวลานานก่อนการลอกคราบ เปลือกที่สร้างขึ้นใหม่จะประกอบด้วยชั้น epicuticle และชั้น exocuticle เท่านั้นโดยไม่พบชั้น endocuticle เลยและเปลือกจะไม่ยึดติดกับชั้นเยื่อบุผิว (epidermis) ดังนั้นเปลือกใหม่จะอ่อนแอไม่สามารถต้านทานการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ (muscular contraction) และแรงดันที่เพิ่มขึ้นในขณะลอกคราบได้ ผลดังกล่าวทำให้แมลงวัยอ่อนลอกคราบไม่ออกหรือลอกคราบ

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อแมลงชนิดต่าง ๆ

ชนิดของแมลง	อายุ	สาร	ความเข้มข้น มิลลิกรัม/กรัม	เวลาที่ให้สาร	อาการ	เอกสารอ้างอิง
แมลงวันบ้านวัยอ่อน (Housefly larvae)	ฟักออกมาจากไข่	OMS 1804[1]	0.25	ถึงระยะดักแด้	ตาย 92 %	Jakob, 1973
แมลงวันบ้านวัยอ่อน	1 วัน	TH 6040[2]	10.00	3 วัน	ตาย 100 %	Ishaaya and Casida, 1974
แมลงวันบ้านวัยอ่อน	1 วัน	TH 6040	2.00	3 วัน	ตาย 54 % ลักษณะผิดปรกติ[3] 46 % (สามารถลอกคราบเป็นแมลงโตเต็มวัยปกติ 18 %)	Ishaaya and Casida, 1974
แมลงวันบ้านวัยอ่อน	2 วัน	TH 6040	1.00	3 วัน	ปริมาณไคตินเท่ากับ 50 % ของแมลงวัยอ่อนปรกติ การทำงานของเอ็นไซม์ chitinase เพิ่มขึ้น 180 % การทำงานของเอ็นไซม์ phenoloxidase เพิ่มขึ้น 155 %	Ishaay and Casida, 1974
ยุง Aedes aegypti	วัยอ่อน	OMS 1804	0.005	ถึงระยะดักแด้	ไม่สามารถลอกคราบเป็นยุงโตเต็มวัย 95 % (LC_{95})	Jakob, 1973
หนอนใบฝ้าย Spodoptera littoralis	ไข่ 0 - 1 วัน	5 % liquid formulation[4]	0.25	ถึงระยะพักเป็นตัว	ตาย 100 %	Ascher et al., 1980
หนอนใบฝ้าย Spodoptera littoralis	ระยะที่ 4	Dimilin 25 % W.P.[5]	64.75	ให้สาร 24 ชั่วโมง แล้วนำออกมาบริเวณไม่ให้สาร 3 วัน	ตาย 50 % (LC_{50})	Radwan et al., 1986
แมลงปีกแข็ง Tribolium castaneum Stored product beetles	แมลงโตเต็มวัย เพศผู้และเพศเมีย	PH 60 - 40	0.36	ถึงระยะรุ่นลูกโตเต็มวัย	ลดการโตเต็มวัยของรุ่นลูก 50 % (EC_{50})	Carter, 1975

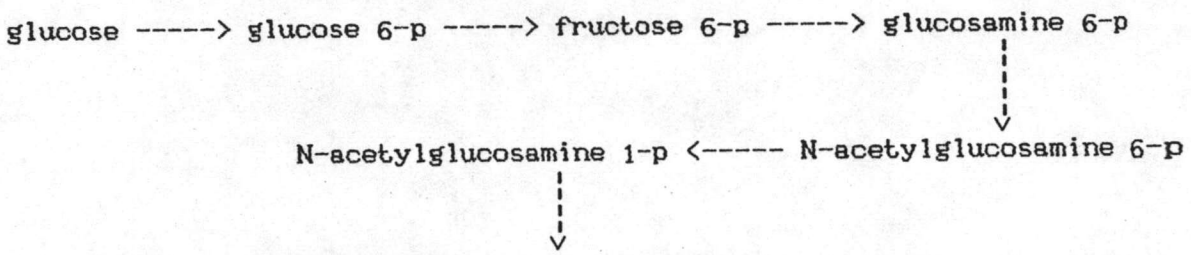
1 และ 2 เป็นระหัสของสารไดฟลูเบนซูรอน

3 เป็นดักแด้ที่มีลำตัวยาวและมีวงแหวนผิดปรกติ (abnormally elongated with distinct larval ring)

4 เป็นสูตรที่ใช้ในการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยเฉพาะ

5 มีคุณสมบัติผงขนาดอนุภาคต่ำกว่า 5 ไมโครเมตรอยู่ในน้ำ 25 % (25 % water dispersible powder)

ออกได้เพียงบางส่วนเท่านั้น (Mulder and Gijswijt, 1973) รายงานดังกล่าวเป็นเหตุให้มีผู้สนใจศึกษาผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อองค์ประกอบหลักในเปลือกแมลงซึ่งได้แก่ ไคติน (chitin) และโปรตีน การสังเคราะห์ไคตินเกิดขึ้นโดยมี glucose เป็นสารเริ่มต้นดังแผนภาพที่ 2



แผนภาพที่ 2 วิถีทาง (Pathway) ของการสังเคราะห์ไคติน (Post et al., 1974)

ในปี 1973 Post และ Vincent พบว่าสาร Du19111 ซึ่งเป็นสารใกล้เคียงกับสารไดฟลูเบนซูรอนมีผลไปยับยั้งการสังเคราะห์สารไคติน ต่อมา Post et al. (1974) ได้ใช้วิธี autoradiography พบว่า Du19111 มีผลไปยับยั้งการสร้างไคตินเหมือนกันและแมลงวัยอ่อนจะสร้าง UDPAG ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างตัวที่กินสารและที่เป็นหน่วยควบคุม ดังนั้นจุดที่ไปมีผลอาจอยู่ระหว่าง UDPAG และไคติน จึงได้มีการตั้งข้อสังเกตว่าอาจจะเกี่ยวข้องกับเอ็นไซม์ chitin synthetase (Post and Mulder, 1974 อ้างตาม Sowa and Marks, 1975) แต่ Mayer et al. (1981) รายงานว่าสารไดฟลูเบนซูรอนไม่มีผลต่อเอ็นไซม์ดังกล่าว นักวิทยาศาสตร์อีกกลุ่มหนึ่งพบว่าสารไดฟลูเบนซูรอนมีผลทำให้ปริมาณไคตินในเปลือกแมลงวัยอ่อนลดลงแต่ไม่มีผลต่อโปรตีน (Ishaaya and Casida, 1974 และ Hunter and Vincent, 1974) ซึ่งขัดแย้งกับ Binnington et al. (1987) ที่พบว่าโปรตีนลดลงด้วย ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากการเรียงตัวของไคตินและโปรตีนในแมลงต่างชนิดกันหรือมีเทคนิคการเตรียมเปลือกแมลงต่างกัน (Binnington et al., 1987) นอกจากนี้สารไดฟลูเบนซูรอนไปเพิ่มการทำงานของเอ็นไซม์ 2 ชนิด คือ chitinase และ phenoloxidase ซึ่งคาดว่าจะทำให้ปริมาณไคตินในเปลือกแมลงลดลงแต่เพิ่มความแข็ง (sclerotization) ในชั้น exocuticle (Ishaaya and Casida, 1974) ส่วน Yu และ Terriere (1975) พบว่าสารไดฟลูเบนซูรอนทำให้เอ็นไซม์ที่ย่อยสลายฮอร์โมน B-ecdysone (B-ecdysone metabolizing enzyme) มีการทำงาน

น้อยลงดังนั้นอาจมีการสะสมฮอร์โมน B-ecdysone เพิ่มขึ้น โดยฮอร์โมนนี้สามารถกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ chitinase (Kimura, 1973 อ้างตาม Yu and Terriere, 1975) และเอ็นไซม์ phenoloxidase (Shaaya and Sekeris, 1965 อ้างตาม Yu and Terriere, 1975) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Ishaaya and Casida (1974) ที่ว่าเอ็นไซม์ทั้ง 2 ทำงานมากขึ้นเมื่อมีสารไดฟลูเบนซูรอน อย่างไรก็ตาม Deul et al. (ไม่ได้พิมพ์เผยแพร่ อ้างตาม Verloop and Ferrell, 1977) รายงานว่าการสร้างไคตินไม่เกี่ยวกับเอ็นไซม์ chitinase ในปี 1975 Sowa และ Mark ได้ศึกษาเกี่ยวกับฮอร์โมน B-ecdysone พบว่าถ้าไม่มีฮอร์โมนนี้จะไม่มีการสร้างไคติน ดังนั้นผลของสารไดฟลูเบนซูรอนอาจเกี่ยวข้องกับฮอร์โมน B-ecdysone แล้วมีผลต่อเนื่องถึงการสร้างไคตินเป็นอันดับรอง (secondary effect)

ผลของสารไดฟลูเบนซูรอนในระดับโครงสร้างละเอียด (fine structure) ของเปลือกแมลงพบว่าในชั้น procuticle จะไม่เรียงตัวเป็นชั้น (lamellar) (Turnbull et al., 1980; Binnington, 1985 และ Binnington et al., 1987) เปลือกจะบางลงและมีโครงสร้างรูปร่างกลม (Globular bodies) อยู่ภายใน (Binnington, 1985 และ Binnington et al., 1987) ส่วนในครัสเตเชียน Christiansen และ Costlow (1982) ศึกษาผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อโครงสร้างเปลือกปูวัยอ่อนพบความผิดปกติในชั้น endocuticle และ exocuticle และได้ทำการทดลองต่อเนื่องพบว่าสารไดฟลูเบนซูรอนทำให้การใช้สารเริ่มต้นเพื่อสังเคราะห์ไคตินลดลงในช่วงที่มีการสร้างชั้นดังกล่าว (Christiansen et al., 1984)

จากข้อมูลที่ค้นคว้าได้ในปัจจุบันทราบแน่ชัดว่าสารไดฟลูเบนซูรอนมีผลต่อไคติน แต่ยังสรุปไม่ได้ว่ากลไกในระดับโมเลกุลมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไร

6. <u>ผลต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ</u>

สารไดฟลูเบนซูรอนมีผลน้อยต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ดังจะเห็นได้จากข้อมูลในตารางที่ 2 ค่า LD_{50} (ปริมาณของวัตถุมีพิษที่ทำให้สัตว์ทดลองตายไป 50 เปอร์เซนต์) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีค่ามากกว่า 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมขึ้นไป สำหรับผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อสัตว์ปีกมีค่าใกล้เคียงกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมคือค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากในนกดุเหว่าปีกแดง (<u>Agelaius phoeniceus</u>) เท่ากับ 3,672 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว (Duphar B.V.)

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Duphar B.V.)

LD_{50} (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวภายในเวลา 14 วัน)			
วิถีทาง (Route)	ชนิดของสัตว์	ไดฟลูเบนซูรอน technical diflubenzuron	Dimilin WP-25
ทางปาก	หนู (mouse)	> 4640	> 10000
ทางปาก	หนู (rat)	> 4640	> 10000
ทางช่องท้อง	หนู (mouse)	> 2150	-
ทางผิวหนัง	กระต่าย	> 2000	> 4640

Dimilin WP-25 : มีดิมมิลินผงขนาดอนุภาคต่ำกว่า 5 ไมโครเมตรอยู่ในน้ำ 25 เปอร์เซนต์ (25 % water dispersible powder)

ผลของสารไดฟลูเบนซูรอนในรูป Dimilin WP-25 ต่อปลาชนิดต่าง ๆ พบว่าไม่มีพิษต่อปลา 7 ชนิดที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับปลาเทราท์ (Rainbow trout) Dimilin ODC-45 (45 % W/V oil dispersible concentrate) ปริมาณ 146 มิลลิกรัมต่อลิตรจะทำให้เกิดพิษเฉียบพลัน (LC_{50}) ใน 96 ชั่วโมง (Southern Mill Creck Services B.V.) ตามหลักการวางมาตรฐานคุณภาพแหล่งน้ำจืดของประเทศสหรัฐอเมริกา (The U.S. Federal Register on March 15, 1979 (44FR15970)) ในการศึกษาพิษเฉียบพลัน (acute tests) ต้องมีสัตว์น้ำจืด 8 ครอบครัว ซึ่งอย่างน้อยต้องประกอบไปด้วยครอบครัวปลาแซลมอน (salmonid fish), ครอบครัวที่ไม่ใช่ปลาแซลมอน (non-salmonid fish), ครัสเตเชียนที่เป็นแพลงค์ตอน, ครัสเตเชียนบริเวณหน้าดิน, แมลงบริเวณหน้าดิน และแมลงหน้าดินที่กินทรากพืชและสัตว์รวมอยู่ด้วย ส่วนการศึกษาพิษเรื้อรัง (chronic tests) ต้องทำการทดลองในสัตว์น้ำ 3 ชนิด โดยต้องมีปลา 1 ชนิด, สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง 1 ชนิด และใน 3 ชนิดต้องเป็นสัตว์น้ำจืดอย่างน้อย 2 ชนิด Hansen and Garton (1982) ได้ใช้

ตารางที่ 3 ค่าความเป็นพิษของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อสัตว์น้ำจืดบางชนิด
(Hansan and Garton, 1982)

ชนิด	ลักษณะการทดลอง	LC_{50} (ไมโครกรัม/ลิตร)
1. พิษเฉียบพลัน		
Salmo gairdneri (Salmonid fish species)	96 ชั่วโมง LC_{50}	ไม่มีผล ≤ 45
Pinephales promelas (Non-Salmonid fish species)	96 ชั่วโมง LC_{50}	ไม่มีผล ≤ 45
Lebistes reticulatus (Non-Salmonid fish species)	96 ชั่วโมง LC_{50}	ไม่มีผล ≤ 45
Cricotopus sp. (Benthic insect species)	ตัวอ่อนระยะที่ 4 ---> ตักแด้ LC_{50}	1.79
Tanytarsus dissimilis(Benthic detritivore insect species)	ตัวอ่อนระยะที่ 2 ---> ตัวอ่อนระยะที่ 3 LC_{50}	1.02
Hyallela azteca (Benthic crustacean species)	96 ชั่วโมง LC_{50}	1.84
Daphnia magna (Planktonic crustacean species)	48 ชั่วโมง LC_{50}	1.84
Juga plicifera (Freshwater molluskan species)	96 ชั่วโมง LC_{50}	ไม่มีผล ≤ 45
Physa sp. (Freshwater molluskan species)	96 ชั่วโมง LC_{50}	ไม่มีผล ≤ 45
2. พิษเรื้อรัง		
Salmo gairdneri (Salmonid fish species)	อัตรารอด การเจริญเติบโต 30 วัน ในระยะของช่วงชีวิต	ไม่มีผล ≤ 45
Pimephales promelas (Non-salmonid fish species)	อัตรารอด การเจริญเติบโต 30 วัน ในระยะแรกของช่วงชีวิต	ไม่มีผล ≤ 45
Daphnia magna (Planktonic crustacean species)	อัตรารอดและการสืบพันธุ์ตลอดช่วงชีวิต	0.062
Salenastrum capricornutum (Freshwater algal species)	การเจริญเติบโตในระยะเวลา 120 ชั่วโมง	ไม่มีผล ≤ 45
Juca plicifera (Freshwater molluskan species)	อัตรารอด การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ในระยะเวลา 3 สัปดาห์	ไม่มีผล ≤ 45
Physa sp. (Freshwater molluskan species)	อัตรารอด การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ในระยะเวลา 3 สัปดาห์	ไม่มีผล ≤ 45

ตารางที่ 4 ความเป็นพิษของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อครัสเตเซียนชนิดต่าง ๆ

ชนิด	ลักษณะและผลของการทดสอบ	ความเข้มข้น ไมโครกรัม/ลิตร	เอกสารอ้างอิง
Mysidopsis bahia	96 ชั่วโมง LC_{50}	1.97	Nimmo et al., 1981
Mysidopsis bahia	21 วัน LC_{50} (ตลอดวงจรชีวิต)	1.24	Nimmo et al., 1979
Mysidopsis bahia	การผลิตตัวอ่อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ	0.075	Nimmo et al., 1979
ปูหิน Menippe mercenaria (Stone crab)	มีผลต่อการพัฒนาของปูวัยอ่อนจากการทดลองตั้งแต่เริ่มฟักออกจากไข่ ตัวอ่อนจะตายหมดขณะลอกคราบจากระยะที่ 1 ไปยังระยะที่ 2	0.5	Costlow, 1979
ปูสีน้ำเงิน Callinectes sapidus (Blue crab)	มีผลต่อการพัฒนาของปูวัยอ่อนจากการทดลองตั้งแต่เริ่มฟักออกจากไข่ มีอัตรารอดถึงระยะ Megalopa < 5 %	3.0	Costlow, 1979
ไรน้ำเค็ม Artemia salina	การสืบพันธุ์ของไรน้ำเค็มโตเต็มวัยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ	2.0	Cunningham, 1976
ไรน้ำเค็ม Artemia salina	ไรน้ำเค็มวัยอ่อนตายหมดภายในเวลา 3 วัน	> 10.0	Cunningham, 1976
Rhithropanopeus harrisii	การพัฒนาของปูวัยอ่อนจากการฟักออกจากไข่ไปยังปูเต็มวัย มีอัตรารอดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ	1.0	Christiansen et al., 1978
Sesarma recticulatum	การพัฒนาของปูวัยอ่อนจากการฟักออกจากไข่ไปยังปูเต็มวัย มีอัตรารอดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ	3.0	Christiansen et al., 1978
Balanus eburneus	เพรียงโตเต็มวัยมีอัตรารอดต่ำกว่าหน่วยควบคุม	200.0	Gulka et al., 1980

หลักการดังกล่าวโดยใช้สัตว์ 9 ชนิดทดลองพิษเฉียบพลันและ 5 ชนิดทดลองพิษเรื้อรัง จากผลการทดลองพบว่าสารไดฟลูเบนซูรอนมีผลต่อแมลงและครัสเตเชียนหลายชนิดโดยมีค่า LC_{50} อยู่ระหว่าง 1.0 ถึง 1.8 ไมโครกรัมต่อลิตร และไม่มีพิษเฉียบพลันต่อปลาและหอยจากความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ทดลอง (45 ไมโครกรัมต่อลิตร) ส่วนพิษเรื้อรังมีผลเฉพาะไรแดง Daphnia magna ที่ความเข้มข้น 0.06 ไมโครกรัมต่อลิตรดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 นอกจากนี้การศึกษาในทะเลสาบ Lower Blue Lake ในแคลิฟอร์เนียโดยใช้ความเข้มข้นของสาร 5 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าหลังจากใส่สารไดฟลูเบนซูรอนลงไปในทะเลสาบสัตว์กลุ่ม Cladocera จะลดลงเหลือปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถจับได้และต้องใช้เวลานานถึง 2 เดือนครึ่งจึงมีการฟื้นกลับ (recovery) ของจำนวนประชากร Daphnia spp. (Apperson et al., 1978)

สำหรับการศึกษาผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อครัสเตเชียนในทะเลพบว่ามีความเป็นพิษรุนแรงมาก โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วงความเข้มข้น 1-10 ไมโครกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4) โดยเฉพาะครัสเตเชียนชนิด Mysidopsis bahia ได้มีการศึกษาถึงผลต่อระบบสืบพันธุ์โดยใช้เวลาทดลอง 28 วันพบว่าการผลิตตัวอ่อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นเพียง 0.075 ไมโครกรัมต่อลิตร (Nimmo et al., 1979) คณะผู้ทดลองจึงเสนอแนะว่าการปนเปื้อนของสารไดฟลูเบนซูรอนในระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ (sublethal concentrations) ที่วัดหาปริมาณสารไม่ได้อาจมีผลกระทบต่อสัตว์ในไฟล้มอาร์โทรปอดชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่เป้าหมายด้วย นอกจากนี้ในการทดลองผลของสารไดฟลูเบนซูรอนต่อปูวัยอ่อนพบว่าในระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปูวัยอ่อนตาย (ตารางที่ 4) ปูวัยอ่อนจะยังไม่แสดงอาการผิดปกติจนกว่าจะถึงเวลาลอกคราบซึ่งตอนนั้นปูจะตายโดยมีเปลือกเก่าบางส่วนติดอยู่เนื่องจากไม่สามารถลอกคราบเก่าออกได้เช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นในแมลงวัยอ่อนที่กินสารไดฟลูเบนซูรอน

ข. <u>รอบการลอกคราบ</u> (molt cycle)

รอบการลอกคราบเป็นปรากฏการณ์ทางสรีรวิทยาของครัสเตเชียน เนื่องจากครัสเตเชียนมีเปลือกแข็งปกคลุมลำตัว เมื่อลำตัวเจริญเพิ่มขนาดขึ้นจึงต้องมีการลอกคราบเปลือกออกพร้อมทั้งสร้างเปลือกใหม่มาแทนที่ ความหมายของรอบการลอกคราบไม่ได้หมายถึงกริยาการลอกคราบเปลือกออกจากลำตัวเท่านั้นแต่ได้รวมถึง<u>การเตรียมก่อนการลอกคราบ</u>, <u>การลอกคราบ</u> (ecdysis) และ<u>การเพิ่มขนาดเนื้อเยื่อลำตัวหลังการลอกคราบ</u> รอบการลอกคราบจะเกิดขึ้นในครัสเตเชียนตลอดช่วงชีวิตยกเว้นเฉพาะเมื่อหยุดการเจริญเติบโตแล้วเท่านั้น (Passano, 1960)

จากการที่ครัสเตเชียนเปลี่ยนแปลงลักษณะหลายประการในรอบการลอกคราบ Drach (1939 อ้างตาม Travis, 1955) จึงใช้การเปลี่ยนแปลงของเปลือกแบ่งระยะของรอบการลอกคราบออกเป็น 4 ระยะหลัก ได้แก่ A, B, C และ D โดยแต่ละระยะจะมีระยะย่อยลงไปอีก สำหรับ A และ B เป็นระยะหลังการลอกคราบ (postmolt) C เป็นระยะระหว่างการลอกคราบ (intermolt) และ D เป็นระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) ต่อมาได้มีผู้นำวิธีของ Drach มาใช้และประยุกต์ใหม่ให้เหมาะสมกับครัสเตเชียนแต่ละชนิด เช่น กุ้งมังกร Homarus americanus, ปู Rhithropanopeus harisii, ปูเสฉวน Petrolisthes cinctipes และกุ้งน้ำจืดหลายชนิด (Aiken, 1973; Freeman and Costlow, 1980; Kurup, 1984 และ Scheer, 1980) ลักษณะส่วนใหญ่ที่ใช้ในการแบ่งระยะของรอบการลอกคราบคือการสร้างหนาม (setogenesis) ใหม่ของระยางค์ที่สามารถมองเห็นภายใต้กล้องจุลทัศน์ธรรมดา ส่วนลักษณะอย่างอื่นที่อาจใช้ร่วมด้วยได้แก่ความแข็งของเปลือกและการเปลี่ยนสีของลำตัวบริเวณต่าง ๆ สำหรับกุ้งแชบ๊วย (Penaeus merquiensis de Man) Longmuir (1983) ได้ศึกษาในกุ้งวัยรุ่นโดยใช้การพัฒนาของหนาม (setal development) มาแบ่งระยะของรอบการลอกคราบ

สำหรับปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่มีผลต่อรอบการลอกคราบของครัสเตเชียน ได้แก่ อาหาร อุณหภูมิและแสง อาหารเป็นปัจจัยสำคัญเพราะเป็นแหล่งวัตถุดิบให้กับรอบการลอกคราบ ถ้างดอาหารจะทำให้ครัสเตเชียนไม่ลอกคราบและเมื่อเปรียบเทียบกับการให้อาหารที่มีโปรตีนในระดับต่าง ๆ กันพบว่าเมื่อมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้นจำนวนครั้งของการลอกคราบจะมากขึ้น (Castell and Budson, 1974 และ Millikin et al., 1980) การลดปริมาณอาหารจะทำให้การเจริญเติบโตและจำนวนครั้งของการลอกคราบลดลง (Chittleborough, 1975) ส่วนอุณหภูมิจะแตกต่างจากปัจจัยอื่น ๆ เพราะจะมีผลต่อรอบการลอกคราบทั้งทางตรงและทางอ้อม ทางตรงคือเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะไปเร่งรอบการลอกคราบให้เร็วขึ้นซึ่งหมายถึง metabolism ของครัสเตเชียนถูกเร่งให้เพิ่มขึ้นทางอ้อมด้วย (Passano, 1960) เมื่ออุณหภูมิลดลงจะทำให้การลอกคราบช้าลงและจำนวนครั้งของการลอกคราบลดลงด้วย ครัสเตเชียนจะหยุดการลอกคราบเมื่ออุณหภูมิลดลงถึงจุดหนึ่ง เช่นในกุ้งมังกร Homarus americanus จะหยุดการลอกคราบที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส การหยุดลอกคราบนี้จะเกิดขึ้นหากลดอุณหภูมิเป็น 5 องศาเซลเซียสก่อนระยะ Do หรือที่ระยะ Do เท่านั้นเพราะการลดอุณหภูมิเป็น 5 องศาเซลเซียส ขณะกุ้งมังกรอยู่ในระยะ D1 กุ้งมังกรจะสามารถผ่านช่วงระยะก่อนการลอกคราบไปได้อย่างช้า ๆ และจะลอกคราบได้อย่างสมบูรณ์แม้ว่าอุณหภูมิต่ำถึง 0 องศาเซลเซียส (Aiken and Waddy, 1976 อ้างตาม Aiken,

1980) นอกจากนี้อุณหภูมิยังสัมพันธ์กับการทำงานของฮอร์โมน ecdysterone ซึ่งจากการทดลองที่อุณหภูมิ 3 ระดับคือ 10, 17 และ 21 องศาเซลเซียส โดยให้ระดับฮอร์โมนเท่ากันคือ 1 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กรัม พบว่าที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ไม่สามารถเร่งรอบการลอกคราบ แต่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียสขึ้นไปจะไปเร่งการทำงานของฮอร์โมนมากเกินไปเรียกว่า hyperecdysonism ทำให้กุ้งมังกร Homarus americanus ตายขณะกำลังลอกคราบ (Aiken and Waddy, 1975) นอกจากนี้ยังมีข้อสรุปเพิ่มเติมอีกด้วยว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างรวดเร็วจะทำให้รอบการลอกคราบเร็วขึ้นในกุ้ง Penaeus kerathurus (Cuzon and Cognie, 1970 อ้างตาม Aiken, 1980) ปัจจัยสำคัญอีกอย่างคือแสง สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มักอยู่ภายใต้อิทธิพลของช่วงเวลาแสง (Photoperiod) ใน 24 ชั่วโมงของแต่ละวัน รอบการลอกคราบของครัสเตเซียนก็อยู่ภายใต้อิทธิพลนี้เช่นเดียวกัน จากการทดลองในกุ้งมังกร Panulirus longipes พบว่าถ้าไม่ให้แสงเลยกุ้งมังกรจะลอกคราบน้อยกว่าการให้แสง 12 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ (Chittleborough, 1975) นอกจากนี้การกระตุ้นของแสงให้มีการลอกคราบยังมีความสัมพันธ์กับฤดูกาลด้วย เช่น ในฤดูใบไม้ร่วงกุ้งมังกร Orconectes virilis ต้องการแสง 20 ชั่วโมงต่อวันจึงจะมีการลอกคราบหากเป็นฤดูใบไม้ผลิเมื่อได้รับแสงเพียงวันละ 3 ชั่วโมงก็สามารถกระตุ้นให้มีการลอกคราบได้ (Aiken, 1969)

ค. เปลือกของครัสเตเซียน

1. โครงสร้างเปลือก

ในปี ค.ศ. 1860 Williamson ได้แบ่งชั้นของเปลือกครัสเตเซียนครั้งแรกใน Podopthalmous crustacean โดยดูจากลักษณะความแตกต่างพบว่ามีอยู่ 4 ชั้น ชั้นแรกอยู่นอกสุดมีโครงสร้างที่ไม่มีรูปแบบ (structureless) ชั้นถัดมามีลักษณะคล้ายฟองอากาศ (aerolated layer) ชั้นที่สามเป็นชั้นที่มีแคลเซียมสะสมอยู่ (calcified corium) และชั้นในสุดไม่มีแคลเซียม (uncalcified corium) (Yonge, 1932) ต่อมา Vitzou (1882 อ้างตาม Yonge, 1932) ได้ศึกษาเปลือกของครัสเตเซียนหลายชนิด เช่น Homarus, Astacus, Palinurus, Maia, Carcinus, Platycarcinus และ Portunum ปรากฏว่าเปลือกของครัสเตเซียนมีลักษณะเหมือนกับที่ Williamson พบแต่เรียกชื่อชั้นของเปลือกแตกต่างออกไปดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 การเรียกชื่อชั้นของเปลือกครัสเตเซียนนี้ Aiken (1980) ได้แสดงทัศนะว่าชื่อที่ Drach (1939 อ้างตาม Aiken, 1980) ตั้งไว้นั้น (ตารางที่ 5) ไม่ตรงกับความเป็นจริงเสมอไปเนื่องจากชั้น pigmented layer ของครัสเตเซียนบางชนิดอาจ

013804

ตารางที่ 5 สรุปการเรียกชื่อชั้นของเปลือกครัสเตเชียน (เรียงจากด้านนอก)

ชั้นที่ 1	ชั้นที่ 2	ชั้นที่ 3	ชั้นที่ 4	เอกสารอ้างอิง
Superficial, almost structureless	Aerolatedlayer	Calcified corium	Inner layer of uncalcified corium	Williamson, 1860 อ้างตาม Yonge, 1932
Cuticle	Pigmented layer	Calcified layer	Noncalcified layer	Vitzou, 1882 Yonge, 1932
Epicuticle	Pigmented layer Poincipal layer ——— Endocuticle ———		Membranous layer	Drach, 1939 อ้างตาม Aiken, 1980; Travis, 1955; 1957 และ Guiraud-Guille, 1984
Epicuticle	Pigmented layer Calcified layer ——— Endocuticle ———		Uncalcified layer	Dennell, 1960 และ Lockwood, 1967
Epicuticle	Preexuvial endocuticle Postexuvial endocuticle ——— Procuticle ———		Membranous layer	Stevenson, 1968
Epicuticle	Exocuticle	Endocuticle	Membranous layer	Richard, 1951 อ้างตาม Aiken, 1980; Aiken, 1980; Arsenault et al., 1984; Travis, 1960; Warmer, 1977; Green and Neff, 1982 Erri Babu et al., 1985 และ Skinner, 1962
Epicuticle	Pigmented layer Calcified layer Procuticle		Membranous layer	Lower, 1964 อ้างตาม Aiken, 1980
Epicuticle	Pigmented layer	Endocuticle	Membranous layer	Schafer, 1968 อ้างตาม Aiken, 1980

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ไม่มีเม็ดสี (pigment) และนอกจากชั้น calcified layer แล้วยังพบแคลเซียมในชั้นอื่นอีกด้วย Aiken (1980) ได้ให้ความเห็นว่าชื่อที่นิยมเรียกกันเริ่มมาจาก Richards (1951 อ้างตาม Aiken, 1980) ซึ่งได้เรียกชั้น 4 ชั้นของเปลือกว่า epicuticle, exocuticle, endocuticle และ membranous layer โดยเรียงตามลำดับจากชั้นที่อยู่นอกสุดเข้ามา ชื่อชั้นเหล่านี้เรียกตามตำแหน่งที่อยู่และสื่อความหมายได้ดี ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จะใช้ชื่อดังกล่าวรายงานผล นอกจากชั้นทั้ง 4 ชั้นแล้ว Stevenson (1968) ได้รายงานว่ามีชั้น mesocuticle อยู่ใต้ชั้น epicuticle แต่ Erri Babu et al. (1985) ได้รายงานว่าชั้น mesocuticle อยู่ระหว่างชั้น exocuticle และชั้น endocuticle จากความไม่แน่นอนนี้รวมทั้งโดยทั่วไปมักเน้นว่าเปลือกครัสเตเชียนมี 4 ชั้น (ตาราง 5) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จะไม่รวมเอาชั้น mesocuticle ไว้ในโครงสร้างเปลือกครัสเตเชียน ชั้นทั้ง 4 ของเปลือกจะเรียงซ้อนกันตามแนวนอนโดยวางตัวขนานกับเปลือกแต่ละปล้อง นอกจากนี้ยังมีโครงสร้างที่อยู่ในแนวดิ่งมีลักษณะเป็นท่อเรียกว่า pore canal ซึ่งจะกล่าวในรายละเอียดพร้อมกับโครงสร้างทั้ง 4 ชั้น ดังนี้

1. ชั้น epicuticle เป็นชั้นที่บางที่สุดถ้าไม่ย้อมสีจะมีสีเหลืองอ่อน (Dennell, 1960) เมื่อย้อมด้วย Mallory's triple stain จะติดสีแดง (Stevenson, 1968 และ Erri Babu et al., 1985) และติดสีม่วงเมื่อย้อมด้วย Hematoxylin และ Eosin (Stevenson, 1969) ภายใต้กล้องจุลทัศน์ธรรมดาจะเห็นเป็นชั้นเรียบ ๆ มีโครงสร้างที่ไม่มีรูปแบบ แต่เมื่อดูด้วยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่านจะเห็นรายละเอียดของโครงสร้างมากขึ้น เช่นในเพรียงวัยอ่อน Balanus perforatus (Cirripede nauplii) epicuticle จะประกอบด้วยแถว 3 แถวตามแนวนอนโดยแถวแรกและแถวที่สามจากด้านนอกจะมีสีทึบเข้ม (electron dense) ส่วนตรงกลางมีสีจางกว่ามาก (Klepal and Barnes, 1978) สำหรับเพรียงชนิด Balanus balanoides ที่โตเต็มวัยแล้วจะมีชั้น epicuticle แถวเดียว ภายในแถวมีแท่งเล็ก ๆ สีทึบอยู่บนพื้นเรียบที่มีสีขาวกว่าสลับกันตลอดความยาวของ epicuticle (Koulish and Klepal, 1981) ส่วนชั้น epicuticle ในสัตว์กลุ่มเดคะพอด (Decapods) จะมีลักษณะที่แตกต่างออกไป เช่นในปูก้ามดาบ (Fiddler crab) จะมีแถวเรียงซ้อนกันตามแนวนอน 6 แถว แถวแรกจะสลับกันระหว่างสีทึบและสีขาวโดยแต่ละแถวจะมีสีสม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนแถวที่ 6 มีความหนามากที่สุดและซับซ้อนที่สุดเนื่องจากมีแท่งตามขวางติดสีทึบและระหว่างแท่งมีสีขาวสลับกันไป ลักษณะแท่งนี้ต่างจากในเพรียงโดยในปูก้ามดาบตรงปลายแท่งจะเรียวลงและมีปลายแหลมแทรกเข้าไปในส่วนบนของชั้น exocuticle ภายในแท่งมีแกนเล็ก ๆ

(strands) ติดสีเข้มมาก (Green and Nelf, 1972) สำหรับปูน้ำกร่อย Rhithropanopeus harrisii วัยอ่อนมีชั้น epicuticle 6 แถวเหมือนกับปูก้ามดาบแต่แถวบนสุดมีส่วนที่ยื่นออกมาคล้ายขน (hairlike appearance) และแถวล่างสุดไม่พบลักษณะเป็นแท่ง (Christianson and Costlow, 1982)

2. ชั้น exocuticle มีลักษณะซ้อนกันเป็นแถวตามแนวนอน (laminae) (Travis, 1955 และ Erri Babu et al., 1985) ย้อมด้วย Mallory triple stain จะติดสีน้ำเงินของ aniline blue (Dennell, 1960 และ Erri Babu et al., 1985) เมื่อใช้กล้องจุลทัศน์ธรรมดาศึกษาเปลือกของเดคะพอดหลายชนิดเช่น Panulirus argus, Gecarcinus lateralis, Orconectes sanborni, Homarus และ Menippe rumphii พบว่าชั้นที่ซ้อนกันมีลักษณะค่อนข้างเรียบ (Travis 1955; 1957; Skinner, 1962; Stevenson, 1968; Stevenson et al., 1968; Aiken, 1980 และ Erri Babu et al., 1985) เมื่อใช้กำลังขยายสูงขึ้นโดยใช้กล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่าชั้น exocuticle ของเปลือกปูก้ามดาบมี 2 บริเวณที่แตกต่างกันคือด้านบนจะมี microfibrils ของไคติน-โปรตีนที่ไม่ต่อเนื่องกัน ส่วนด้านล่างมี microfibrils ของไคติน-โปรตีนต่อเนื่องกันตลอดและมีความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น (Green and Neff, 1972) สำหรับปูชายฝั่งมหาสมุทรแอตแลนติก Carcinus maenas (Atlantic shore crab) มีการศึกษารายละเอียดมากขึ้นโดยใช้กล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่านกำลังขยายสูงมากทำให้สามารถแบ่งระดับการเรียงตัวของ microfibrils ออกได้ 3 ระดับ ระดับแรกอธิบายการวางตัวของโมเลกุลของไคตินและโปรตีนได้ โดยไคตินมีลักษณะเป็นแท่งกลมไม่ติดสี (clear rod) และมีโปรตีนที่ติดสีทึบ (electron dense) อยู่ล้อมรอบเรียกลักษณะนี้ว่า microfibrils ระดับที่สอง microfibrils มารวมตัวกันกลายเป็นกลุ่มใหญ่และวางตัวในรูปต่าง ๆ เรียกว่า fibrils ส่วนระดับที่สาม microfibrils ที่วางตัวในแนวนอนขนานกับเปลือกจะโค้งจากแถวหนึ่งไปอีกแถวหนึ่งทำให้เกิดรูปแบบการวางตัวเป็น Helicoid โดยความหนาของส่วนโค้งจะเท่ากับครึ่งหนึ่งของ Helicoidal pitch (Giraud-Guille, 1984)

3. ชั้น endocuticle เป็นชั้นที่มีความหนามากที่สุด มีคุณสมบัติการติดสีเหมือนชั้น exocuticle แต่จะติดสีจางกว่า (Travis, 1957) ลักษณะการซ้อนกันเป็นแถวเหมือนกับชั้น exocuticle คือมี microfibrils ของไคติน-โปรตีนมาเรียงตัวกัน เมื่อใช้กำลังขยายสูงจะเห็นรอยต่อระหว่างชั้น exocuticle และชั้น endocuticle ชัดเจนเพราะบริเวณ exocuticle

ส่วนล่างมี microfibrils มาจับตัวกันหนาแน่นมากแต่เมื่อถึงชั้น endocuticle ความหนาแน่นของ microfibrils จะลดลงทันทีและความหนาแน่นของ microfibrils ภายในชั้น endocuticle จะคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง สำหรับการเรียงตัวของ microfibrils ก็เป็นแบบ helicoid เหมือนกับใน exocuticle แต่ microfibrils ในชั้น endocuticle จะมีระเบียบมากกว่า สำหรับการเรียงตัวแบบ helicoid นี้ microfibrils จะเปลี่ยนแปลงมุมไปทีละน้อยเมื่อความหนาเปลี่ยนแปลง microfibrils ในแถวแรกมีลักษณะเป็นเส้นตรงจะมีมุม ø องศา และ microfibrils ของแถวถัดลงมาจะค่อย ๆ เปลี่ยนมุมไปเรื่อย ๆ ตามความหนาที่เปลี่ยนไปจึงเห็น microfibrils เรียงเป็นลักษณะรูปโค้งและเมื่อเปลี่ยนมุมครบ 180 องศาแล้ว microfibrils จะกลับมาอยู่ในลักษณะเส้นตรงอีกครั้งหนึ่ง จากการคำนวณจำนวนแถวของ microfibrils ในชั้น endocuticle ของปูก้ามดาบเปรียบเทียบกับมุมที่เปลี่ยนไป 180 องศาทำให้ทราบว่ามุมที่ microfibrils เปลี่ยนไปแต่ละครั้งจะเท่ากับ 5.3 องศา (Green and Neff, 1972) จากการศึกษาในระดับโมเลกุลของชั้น endocuticle พบไคตินเป็นแท่งกลมไม่ติดสีและมีโปรตีนติดสีทึบอยู่ล้อมรอบแท่งกลมนี้เช่นเดียวกับชั้น exocuticle แต่การเรียงตัวของไคตินและ protein ในชั้น endocuticle จะเป็นระเบียบมากกว่า (Giraud-Guille, 1984) ในปูวัยอ่อนลักษณะโครงสร้างของชั้น exocuticle และชั้น endocuticle ไม่ซับซ้อนและลักษณะการเรียงตัวของ microfibrils ไม่ชัดเจน และชั้น exocuticle จะติดสีเข้มกว่าชั้น endocuticle (Christiansen and Costlow, 1982)

4. ชั้น membranous layer เป็นชั้นในสุดติดกับเซลล์เยื่อบุผิว (epidermal cell) ภายใต้กล้องจุลทัศน์ธรรมดาปรากฏเหมือนชั้น endocuticle ต้องศึกษาโดยใช้ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดกับเนื้อเยื่อ (histochemical test) จึงสามารถบอกความแตกต่างได้ เมื่อศึกษาปูก้ามดาบโดยใช้กล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่าน ชั้น membranous layer จะปรากฏเป็น 2 ชั้น (bilaminar) ที่มี microfibrils เรียงตัวต่างจากชั้น endocuticle อย่างชัดเจน (Green and Neff, 1972) และในปูชายฝั่งมหาสมุทรแอตแลนติดจะเห็นความแตกต่างตรงรอยต่อระหว่างชั้น endocuticle และชั้น membranous layer ได้อย่างชัดเจนเช่นกันคือความหนาแน่นของ microfibrils ใน membranous layer จะเพิ่มมากขึ้นจนเห็นเป็นสีเข้มเนื้อเดียวกันตลอดโดยตรงระหว่างชั้นจะมีสีจางลง ลักษณะสีจางนี้ผู้รายงานกล่าวว่าอาจเกิดเนื่องจากปัญหาในการตัด (microtome artefacts) หรือการย้อมสี (Giraud-Guille, 1984)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

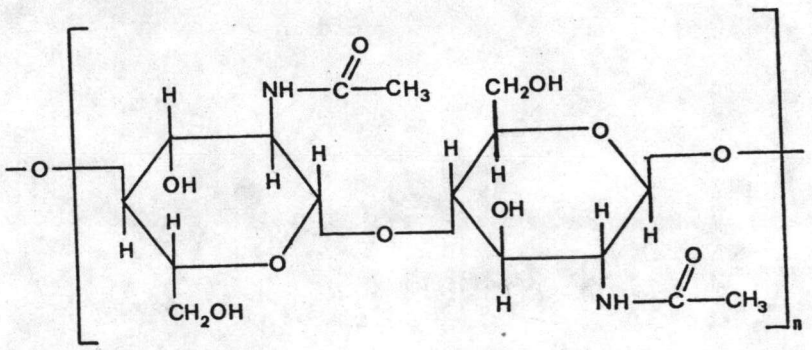
นอกจาก 4 ชั้นที่วางตัวในแนวนอนขนานกับการวางตัวของเปลือกแล้วยังมีท่อที่วางตัวในแนวดิ่งเรียกว่า pore canal ซึ่งมีต้นกำเนิดมาจากเซลเยื่อบุผิวผ่านชั้นต่าง ๆ ไปเปิดที่ชั้น epicuticle เมื่อย้อมด้วย Mallory triple stain ท่อนี้จะติดสีแดงเหมือนชั้น epicuticle (Erri Babu et al., 1985) สันนิษฐานว่าเป็นท่อทางผ่านของสารที่เป็นวัตถุดิบในการสร้างเปลือกซึ่งเคลื่อนย้ายมาจากเซลล์เยื่อบุผิว (Dennell, 1960 และ Warner, 1977) เปลือกของปูมีจำนวน pore canals ถึง 4 ล้านท่อต่อตารางเมตร (Warner, 1977) จากภาพโครงสร้างที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบลำแสงผ่านจะเห็น pore canal จำนวนมากในชั้น exocuticle จำนวนท่อเหล่านี้จะลดลงตามลำดับเมื่อถึงชั้น endocuticle และชั้น membranous layer ลักษณะของ pore cannal จะเป็นท่อโค้งครึ่งวงกลมแบบ parabolic orientation โดยคาดว่าท่อนี้มีการบิดตามแนวของ microfibrils (Green and Neff, 1972 และ Giraud Gville, 1984)

2. องค์ประกอบทางเคมีของเปลือก

ครัสเตเชียนมีเปลือกแข็งปกคลุมอยู่รอบ ๆ ลำตัวเพื่อป้องกันเนื้อเยื่ออ่อนนุ่มภายในและประกอบเป็นรูปร่างลักษณะต่าง ๆ กันในครัสเตเชียนแต่ละชนิด นอกจากนี้ยังมีกล้ามเนื้อมายึดเกาะติดกับเปลือกโดย tonofibrils ของกล้ามเนื้อจะแทรกเข้าไปในเปลือกบริเวณส่วนที่เชื่อมระหว่างชั้น endocuticle และชั้น membranous layer (Green and Neff, 1972) เมื่อกล้ามเนื้อยึดหรือหดตัวเปลือกจะช่วยควบคุมให้มีการเคลื่อนที่ไปในทิศทางที่ต้องการได้ เนื่องจากมีหน้าที่สำคัญดังกล่าวจึงทำให้เปลือกจำเป็นต้องมีองค์ประกอบทั้งสารอินทรีย์และสารอินทรีย์เพื่อทำให้เปลือกแข็งแรงดังต่อไปนี้

1. สารอินทรีย์มีสารที่เป็นหลักคือไคตินและโปรตีน ไคตินเป็นสารพวก aminopoly saccharide โดยมีโมเลกุลของ N-acetylglucosamine มาต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะ 1-4 B-glucosidic bonds (แผนภาพที่ 3.) (Carlstrom, 1957) จะพบไคตินในชั้น exocuticle, endocuticle และชั้น membranous layer แต่ไม่พบในชั้น epicuticle (Dennell, 1960 และ Welinder, 1975) ปริมาณไคตินในเปลือกครัสเตเชียนส่วนใหญ่จะมีมากกว่า 60 % และเมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกแมลงพบว่าครัสเตเชียนมีสัดส่วนของไคตินมากกว่า (Welinder, 1974) และในแต่ละชั้นของเปลือกจะมีปริมาณไคตินไม่เท่ากันเช่นในปู Cancer pagurus มีไคตินอยู่ 6.7, 5.5 และ 4.7 กรัมในชั้น exocuticle, endocuticle และชั้น membranous layer ตามลำดับ สำหรับโปรตีนมีปริมาณน้อยกว่าไคติน คือในเปลือกน้ำหนัก

100 กรัมมีไคติน 66.9 กรัม และโปรตีน 33.1 กรัม (Welinder, 1975) ชนิดของโปรตีนในเปลือกครัสเตเชียนมี 2 แบบเหมือนกับในสัตว์ไฟลัมอาร์โทรปอดอื่น ๆ คือมีโปรตีนที่ละลายน้ำได้เรียกว่า arthropodin (Frankeland and Rudall, 1947 อ้างตาม Welinder, 1974) และโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำเรียก sclerotin (Pryor, 1940 อ้างตาม Welinder, 1974) นอกจากแร่ธาตุแล้วสารอินทรีย์ก็มีส่วนทำให้เปลือกของครัสเตเชียนแข็งด้วย ขบวนการสร้างความแข็งของเปลือกเรียกว่า sclerotization (Summer, 1967) หรือ quinone tanning (Dennell, 1960) โดยขบวนการนี้จะเกิดขึ้นในชั้น epicuticle และ exocuticle หลังจากครัสเตเชียนลอกคราบแล้ว (Dennell, 1947b อ้างตาม Stevenson, 1961) โดยมีเอ็นไซม์ phenoloxidase เป็นตัวเร่ง (Summer, 1967)



แผนภาพที่ 3 แสดงโมเลกุลของ N-acetylglucosamine มาต่อกันเป็นไคติน

2. สารอินทรีย์ เป็นแร่ธาตุที่พบอยู่ในเปลือกของครัสเตเชียน มีความสำคัญในการทำให้เปลือกของครัสเตเชียนแข็งหลังจากการลอกคราบ ส่วนใหญ่ได้แก่แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์ (Huner et al., 1979 และ Arsenault, 1984) สำหรับธาตุที่มีปริมาณมากที่สุดคือแคลเซียมซึ่งเป็นแคลเซียมคาร์บอเนตในรูปของแคลไซท์ calcite โดยจะมีอยู่ถึง 99 % ของสารอินทรีย์ในเปลือกทั้งหมด (Richards, 1951 อ้างตาม Huner et al., 1979) ในกุ้งแคลิฟอร์เนียสีน้ำตาลวัยรุ่น Penaeus californiensis มีปริมาณแคลเซียมบริเวณ rostrum และ carapace มากกว่าบริเวณ abdomen (Huner et al., 1979) เปลือกของครัสเตเชียนเพียงชั้นเดียวที่ไม่มีแคลเซียมคือชั้น membranous layer (Dennell, 1960)

จากองค์ประกอบของเปลือกครัสเตเชียนและแมลงได้มีการสรุปและแบ่งประเภทของเปลือกได้ 2 ประเภท ประเภทแรกได้แก่พวกเปลือกนิ่ม (soft cuticle) พวกนี้จะมีปริมาณ

โปรตีนที่ละลายน้ำและไคตินสูงซึ่งได้แก่ เปลือกของแมลงวัยอ่อน ครัสเตเชียนและเปลือกบริเวณส่วนที่เชื่อมระหว่างข้อ (Intersegmental cuticle) ของทั้งแมลงและครัสเตเชียน ประเภทที่สองเป็นพวกเปลือกแข็ง (hardened cuticle) พวกนี้มีปริมาณไคตินและโปรตีนที่สกัดยากสูง (Welinder, 1975) สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกครัสเตเชียนในชั้นต่าง ๆ ได้สรุปไว้ในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีในชั้นต่าง ๆ ของครัสเตเชียน

ชั้นของเปลือก	สารอินทรีย์	การสร้างความแข็ง (hardening)	
		สารอินทรีย์	สารอนินทรีย์
epicuticle	lipoprotein	quinone tanning compound	calcite
exocuticle	chitin-protein	quinone tanning compound	calcite
endocuticle	chitin-protein	-	calcite
membranous layer	chitin-protein	-	-

ประยุกต์จาก Dennell, 1960; Welinder, 1975 และ Giraud-Guille, 1984

3. การสร้างเปลือกของครัสเตเชียน

การเจริญเติบโตของครัสเตเชียนต้องอาศัยการลอกคราบเปลือกออกจึงจำเป็นต้องมีการสร้างเปลือกใหม่ขึ้นมาแทนที่ การสร้างเปลือกของครัสเตเชียนเริ่มจากมีการสะสมวัตถุดิบทั้งสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่ hepatopancreas ซึ่งอยู่บริเวณทางเดินอาหารส่วนกลาง (Travis, 1955) และมีเซลหลายชนิดทำหน้าที่ต่าง ๆ กันเช่น เซลเยื่อบุผิว เซลที่อยู่บริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เซลเยื่อบุผิวได้แก่ reserve cell และ leydig cell (Travis, 1955 และ 1957) นอกจากนี้ยังอาศัยต่อมที่อยู่บริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เซลเยื่อบุผิวเรียกว่า tegumental gland ซึ่งจะมีท่อไปเปิดที่ชั้น epicuticle (Yonge, 1932 และ Erri Babu

et al., 1985) อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึงการสร้างเปลือกมักให้ความสำคัญที่เซลเยื่อบุผิวเป็นหลัก สำหรับการเปลี่ยนแปลงของเซลต่าง ๆ ในระหว่างการสร้างเปลือกครัสเตเชียนในรอบของการลอกคราบมีดังนี้ ในระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) เริ่มต้นโดยเซลเยื่อบุผิวเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากลักษณะแบนราบในแนวนอนเป็นเซลที่มีความสูงมากขึ้น ภายในเซลมี organells ต่าง ๆ มากขึ้นโดยเฉพาะ endoplasmic reticulum ในระยะนี้เปลือกยังติดอยู่กับ plasma membrane ของเซลเยื่อบุผิว (Green and Neff, 1972) ต่อมาเซลเยื่อบุผิวจะสร้างของเหลวออกมาเรียกว่า molting fluid สู่บริเวณช่องว่างที่เริ่มแยกห่างออกจากกันของเปลือกและเซลเยื่อบุผิวเรียกลักษณะการแยกนี้ว่า apolysis (Jenkin and Hinton, 1966) และที่ membrane ของเซลเยื่อบุจะมีส่วนยื่นออกมาคล้ายนิ้ว (microvilli) ซึ่งตรงปลายยอดมีสารสีทึบเข้มปกคลุมอยู่ (Arsenault, 1984) เรียกว่า plasma membrane plaque ในเพรียงวัยอ่อน Balanus perforatus ในระยะแรกชั้นทึบที่คลุมอยู่บน microvilli จะไม่ต่อเนื่องกัน ต่อมาจะเชื่อมกันเกิดเป็นชั้น epicuticle ขึ้น (Klepal and Barnes, 1984) เมื่อถึงปลายระยะก่อนการลอกคราบ reserve cells จะขยายขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากมีการสะสมพวก polysaccharide ไว้เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบ glycogen มากในเซลเยื่อบุผิวและ hepatopancreas (Travis, 1955) ภายใน leydig cells จะพบสารหลายชนิดได้แก่ glycogen, phospholipids และ tyrosine เมื่อ leydig cells เคลื่อนเข้าใกล้เซลเยื่อบุผิวส่วนปลายของ leydig cells จะแตกและปล่อยสารออกมา ส่วน tegumental gland จะสร้างสารต่าง ๆ ส่งไปยังชั้น epicuticle เมื่อย้อมด้วย Mallory triple stain tegumental gland จะติดสีแดงเช่นเดียวกับชั้น epicuticle สำหรับวัตถุดิบที่สะสมไว้สร้างเปลือกนี้นอกจากได้จากภายนอกแล้วยังมีการดูดซับกลับมาจากเปลือกเก่าก่อนลอกคราบเปลือกออกด้วย (Travis, 1955 และ Arsenault, 1984) ในระยะก่อนการลอกคราบครัสเตเชียนจะสร้างเปลือก 2 ชั้นคือชั้น epicuticle และชั้น exocuticle เมื่อครัสเตเชียนลอกคราบแล้วและเข้าสู่ระยะหลังการลอกคราบ (postmolt) จึงจะเริ่มสร้างชั้น endocuticle บ้างเล็กน้อย (Travis, 1957; Green and Neff, 1972 และ Erri Babu et al., 1985) Glycogen ใน hepatopancreas จะเริ่มลดลงเนื่องจากถูกส่งไปสะสมที่เซลเยื่อบุผิวแทนและ reserve cells มีขนาดและจำนวนลดลงเพราะวัตถุดิบภายในเซลที่เคยสะสมไว้ได้ถูกนำไปใช้ (Travis, 1957 และ Erri Babu et al, 1985) สำหรับชั้น endocuticle จะมีความหนาเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ พร้อมกับมีขบวนการทำให้เปลือกแข็งโดยเกิดการสะสมแร่ธาตุ (calcification or mineralization) และใช้

สารอินทรีย์ในการสร้างความแข็งของเปลือก (quinone tanning) ชั้น membranous layer จะสร้างขึ้นเมื่อครัสเตเชียนเข้าสู่ระยะระหว่างการลอกคราบแล้ว ในระยะนี้โครงสร้างเปลือกจะครบสมบูรณ์ทุกชั้น (Dennell, 1960) เซลล์เยื่อบุผิวกลับไปอยู่ในลักษณะแบนราบและ organells ต่าง ๆ ลดน้อยลง (Green and Neff, 1972)

ง. กุ้งแชบ๊วย Penaeus merquiensis de Man

กุ้งแชบ๊วยเป็นครัสเตเชียนที่อยู่ในกลุ่มเดคะพอด เมื่อโตเต็มวัยลำตัวจะใสและโปร่งแสงหรือมีสีเหลืองไม่มีลาย ในเพศเมียและเพศผู้ที่โตเต็มที่มีขนาดความยาวลำตัว (total length) 240 และ 220 มิลลิเมตรตามลำดับ (Grey et al., 1983) การกระจายของเม็ดสี (chromatophore pattern) ของกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อนบริเวณปล้องที่ 6 ส่วนท้อง ส่วนหาง (telson) และ uropods มีจำนวนน้อยกว่ากุ้ง Penaeus spp. อื่น ๆ เช่น กุ้งกุลาดำ Penaeus monodon และกุ้งกุลาลาย Penaeus semisulcatus (Motoh, 1984) เมื่อกุ้งแชบ๊วยเพศเมียเจริญวัยเต็มที่จะมีรังไข่ขนาดใหญ่อยู่บริเวณปล้องท้องปล้องที่ 1 และปล้องที่ 2 รังไข่มีรูปร่างเป็นสามเหลี่ยมสีเขียวอมดำ (Kungvankij et al., 1973a) เมื่อกุ้งแชบ๊วยผสมพันธุ์แล้วตัวเมียจะมีถุงเก็บน้ำเชื้อไว้สำหรับปล่อยมาผสมกับไข่ในน้ำทะเล (Ruangpanit and Chiyakum, 1973) ไข่ที่ผสมแล้วจะใช้เวลา 12 ชั่วโมงจึงจะฟักออกเป็นตัว ระยะแรกเป็นระยะ nauplius ในระยะนี้ยังไม่ต้องการอาหารจากภายนอกเนื่องจากมีอาหารสะสม (yolk) อยู่ภายในตัว ระยะ nauplius มี 6 ระยะ จากนั้นจึงเข้าสู่ระยะ protozoea ซึ่งมี 3 ระยะ ในระยะ protozoea จะเริ่มกินอาหารจากภายนอกได้แก่พวกแพลงค์ตอนพืช ต่อมาเป็นระยะ mysis 3 ระยะมีลักษณะคล้ายกุ้งมากขึ้นแต่ยังใช้ขาเดิน (pereiopod) ว่ายน้ำถอยหลังในลักษณะหงายท้อง ระยะ mysis จะกินแพลงค์ตอนสัตว์ขนาดเล็กเช่นไรน้ำเค็มวัยอ่อน (Artemia nauplii) เมื่อผ่านระยะ mysis ทั้ง 3 ระยะแล้วจึงเข้าสู่ระยะวัยอ่อนซึ่งมีลักษณะเหมือนกุ้งโตเต็มวัยแล้ว (post larva) ในระยะนี้จะใช้ขาว่ายน้ำ (pleopod) ว่ายน้ำไปข้างหน้าโดยคว่ำลำตัวตามปกติและเริ่มใช้ขาเดินเกาะหรือคลานตามพื้นพร้อมทั้งเริ่มกินเนื้อสัตว์ จากระยะฟักออกจากไข่จนถึงระยะตัวอ่อนวันที่ 1 จะใช้เวลาทั้งหมด 9 วัน (Motoh and Buri, 1979) ส่วนการวางไข่ของกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อนจะมีตลอดปีและมีมากที่สุดในเดือนกรกฎาคมและสิงหาคม (Kungvankij et al, 1973a)

โดยทั่วไปจะพบกุ้งแชบ๊วยในแถบอินโดแปซิฟิก (Indo-Pacific) จากอ่าวเปอร์เซียจนถึงประเทศออสเตรเลีย บริเวณที่จับได้เป็นพื้นโคลน (muddy bottom) ที่ความลึก 10 ถึง

45 เมตร และมักพบกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อน (post larva) บริเวณเอสทูรีและปากแม่น้ำ (Grey et al., 1983) ในประเทศไทยจะพบกุ้งแชบ๊วยบริเวณพื้นโคลนที่ความลึก 10 ถึง 15 เมตร (Kungvankij et al., 1973b) จากการศึกษาของเพ็ญศรี บุญเรือน และวุฒิชัย เจนการ (2527) และจินดา นาครอบรู้ (2527) พบกุ้งแชบ๊วยวัยอ่อนบริเวณป่าชายเลนฝั่งตะวันออกของเกาะภูเก็ตและบริเวณอ่าวไทย

กุ้งมีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจโดยมีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปีในปี พ.ศ. 2524 - 2528 มีค่าเฉลี่ยปริมาณการส่งออกกุ้งแช่แข็งถึง 21,000 ตันมีมูลค่า 2,000 ถึง 3,000 ล้านบาท และเมื่อปี พ.ศ. 2529 มีปริมาณการส่งออก 28,717 ตันมีมูลค่า 4,391 ล้านบาท และระยะ 6 เดือนแรกของปี พ.ศ. 2530 นี้มีการส่งออกถึง 17,000 ตันมูลค่า 2,660 ล้านบาท ซึ่งมีปริมาณและมูลค่าเพิ่มจากปี พ.ศ. 2529 ในระยะเวลาเดียวกัน 15 และ 25 เปอร์เซนต์ตามลำดับ และคาดว่าในปี พ.ศ. 2530 นี้จะมีมูลค่าการส่งออกกุ้งแช่แข็งถึง 5,400 ล้านบาท (Vachratith, 1987) เนื่องจากกุ้งเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้สูงให้แก่ประเทศดังกล่าว รัฐบาลไทยจึงส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงกุ้ง สำหรับกุ้งแชบ๊วยมีนักวิชาการประมงได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงและอนุบาลลูกกุ้งแชบ๊วยด้วยวิธีต่าง ๆ (Ruangpanit and Chaiyakaum, 1973; ประกิต ไกรสิงห์เดชา และคณะ, 2528 และนิเวศน์ เรืองพานิชและคณะ 2528) รวมทั้งการเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยแบบพัฒนา (intensive culture) (นิพนธ์ เหมะประสิทธิ์ และศุภชัย สัมมาวุฒิ, 2527) เป็นผลให้การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลบริเวณชายฝั่งมีจำนวนเนื้อที่และผลผลิตกุ้งเพิ่มขึ้นทุกปีในปี พ.ศ. 2526 มีพื้นที่ถึงสองแสนกว่าไร่ใน 17 จังหวัด มากที่สุดในจังหวัดสมุทรสาครรองลงมาคือจังหวัดสมุทรปราการ สมุทรสงคราม และเพชรบุรี ตามลำดับ ผลผลิตกุ้งทะเลมีกุ้งแชบ๊วยอยู่ถึง 68 เปอร์เซนต์ (สถิติการประมงทะเล 2526, 2529)

กุ้งแชบ๊วยเป็นสัตว์ที่ไวต่อการตอบสนองสารพิษ (ปรีชา สมมณี, 2523) จากรายงานของสุทธิชัย เตมียาณิชย์ (2527) และปรีชา สมมณี (2523) ได้ทดลองผลของโลหะหนักต่อสัตว์ทะเลหลายชนิด เช่น ปลากะพงขาว หอยแมลงภู่ หอยนางรม หอยเสียบ และกุ้งแชบ๊วย พบว่าโลหะหนักมีผลต่อกุ้งแชบ๊วยมากที่สุด ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่ากุ้งแชบ๊วยใช้เป็นสัตว์ทดลองที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการศึกษาการตอบสนองต่อสารพิษ