

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๒๑/๒๕๕๙



Technical Paper No. 21/2016

การเพาะพันธุ์ปลาชิวตาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน
Breeding of *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999
on Different Sex Ratio

ณัฐพงษ์ เพชรฤทธิ

Natchapong Petchrit

กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด
กรมประมง
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Inland Fisheries Research and Development Division
Department of Fisheries
Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๒๑/๒๕๕๙



Technical Paper No. 21/2016

การเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน
Breeding of *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999
on Different Sex Ratio

ณัฐพงษ์ เพชรฤทธิ

Natchapong Petchrit

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสตูล
กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด
กรมประมง
๒๕๕๙

Satun Inland Fisheries Research and Development Center
Inland Fisheries Research and Development Division
Department of Fisheries
2016

รหัสทะเบียนวิจัย 56-0555-56006-005



ปลาซิวตาเขียว

Microdevario kubotai Kottelat & Witte, 1999

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	4
วิธีดำเนินการ	4
1. การวางแผนการทดลอง	4
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ	4
3. การวิเคราะห์ข้อมูล	7
4. การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต	8
ผลการศึกษา	8
1. การเพาะพันธุ์	8
2. พัฒนาการของคัพพะปลาชีวาเขียว	10
3. พัฒนาการของลูกปลาชีวาเขียววัยอ่อน	14
4. คุณสมบัติน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์และฟักไข่ปลาชีวาเขียว	21
5. ต้นทุนการผลิต	21
สรุปและวิจารณ์ผล	23
ข้อเสนอแนะ	25
คำขอบคุณ	26
เอกสารอ้างอิง	26
ภาคผนวก	28

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ย (mean±SD) ของการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน	9
2	พัฒนาการคัพภะของปลาชีวาเขียว	10
3	พัฒนาการของลูกปลาชีวาเขียววัยอ่อน	14
4	คุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน ในระยะเวลา 2 เดือน	21
5	คุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการฟักไข่ปลาชีวาเขียว ในระยะเวลา 2 เดือน	21
6	ต้นทุนการผลิตการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน ในระยะเวลา 60 วัน (ระยะเวลาตั้งแต่ลูกปลาฟักออกจากไข่)	22
 ตารางผนวกที่		
1	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว (T1R1)	28
2	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว (T1R2)	28
3	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว (T1R3)	28
4	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว (T1R4)	29
5	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:2 ตัว (T2R1)	29
6	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:2 ตัว (T2R2)	29
7	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:2 ตัว (T2R3)	30
8	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:2 ตัว (T2R4)	30
9	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:3 ตัว (T3R1)	30
10	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:3 ตัว (T3R2)	31

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
11	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:3 ตัว (T3R3)	31
12	จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:3 ตัว (T3R4)	31

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การวัดขนาดปากลูกปลาวัยอ่อนตามวิธีการของ Shirota (1970)	7
2	พัฒนาการของคัพภะปลาชีวาเขียว	12
3	พัฒนาการของลูกปลาชีวาเขียววัยอ่อน	17
ภาพผนวกที่		
1	การรวบรวมปลาชีวาเขียวจากแหล่งน้ำธรรมชาติ	32
2	ลักษณะและขนาดพ่อแม่พันธุ์ปลาชีวาเขียว	32
3	ลักษณะความแตกต่างระหว่างเพศของปลาชีวาเขียว	32
4	ตู้กระจกที่ใช้ในการทดลองการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียว	33
5	อุปกรณ์ป้องกันปลาพ่อแม่พันธุ์กินไข่ตัวเองที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียว	33
6	ลักษณะไข่ปลาชีวาเขียวมีการพัฒนาของไข่ไม่พร้อมกัน (asynchronous oocyte development)	33

การเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน

*ณัฐพงษ์ เพชรฤทธิ์

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสตูล กรมประมง

บทคัดย่อ

การเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียว *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999 ได้ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสตูล ในระหว่างเดือนสิงหาคม-กันยายน 2557 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกันเป็นปัจจัยกระตุ้นให้แม่ปลาวางไข่ ได้แก่ อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1, 1:2 และ 1:3 ตัว ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า จำนวนครั้งในการวางไข่เฉลี่ย เท่ากับ 4.00 ± 0.41 , 4.25 ± 0.48 และ 4.25 ± 0.48 ครั้ง ตามลำดับ จำนวนไข่รวมเฉลี่ยเท่ากับ 177.00 ± 19.07 , 191.75 ± 30.90 และ 159.75 ± 22.39 ฟอง ตามลำดับ อัตราการปฏิสนธิเฉลี่ยเท่ากับ 65.56 ± 1.49 , 65.14 ± 1.10 และ 64.50 ± 1.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อัตราการฟักเฉลี่ยเท่ากับ 57.40 ± 1.36 , 54.05 ± 1.30 และ 55.39 ± 0.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 54.51 ± 0.73 , 58.17 ± 1.27 และ 57.26 ± 0.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจำนวนลูกปลารวมเท่ากับ 36.00 ± 3.34 , 39.00 ± 5.92 และ 33.00 ± 5.46 ตัว ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนครั้งในการวางไข่เฉลี่ย จำนวนไข่รวมเฉลี่ย จำนวนลูกปลารวมเฉลี่ย อัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย อัตราการฟักเฉลี่ย และอัตราการรอดตายเฉลี่ย พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับพัฒนาการของคัพภะและลูกปลาวัยอ่อนพบว่าไข่ปลาชีวาเขียวเป็นประเภทไข่จมไม่ติดกับวัสดุ มีรูปร่างกลม สีขาวใส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.70-0.80 มิลลิเมตร ฟักออกเป็นตัวใช้เวลา 20 ชั่วโมง 9 นาที ที่อุณหภูมิ 25.0-28.0 องศาเซลเซียส ลูกปลาแรกฟักมีความยาว 2.10-2.30 มิลลิเมตร พัฒนาการจากลูกปลาวัยอ่อนจนมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัยใช้เวลา 60 วัน โดยมีความยาว 20.49 มิลลิเมตร ในด้านต้นทุนการผลิต เท่ากับ 8.79, 8.79 และ 11.09 บาทต่อตัว ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากจำนวนครั้งในการวางไข่ จำนวนไข่รวม อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย จำนวนลูกปลารวมที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และต้นทุนการผลิต สรุปได้ว่าการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวควรใช้อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ในอัตรา 1:1 ตัว เหมาะสมที่สุด

คำสำคัญ : ปลาชีวาเขียว การเพาะพันธุ์ อัตราส่วนเพศ

*ผู้รับผิดชอบ : ม.ศ ต.กำแพง อ.ละงู จ.สตูล ๙๑๑๑๐ โทร ๐ ๗๔๗๗ ๕๔๕๕ e-mail : natch08@hotmail.com

Breeding of *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999 on Different Sex Ratio

Natchapong Petchrit*

Satun Inland Fisheries Research and Development Center

Abstract

Breeding of *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999 was conducted at Satun Inland Fisheries Research and Development Center during August - September 2014. The experiment design was completely randomized design on different sex ratio by female per male 1:1, 1:2 and 1:3; respectively. The results shown that, number of time on spawning average were 4.00 ± 0.41 , 4.25 ± 0.48 and 4.25 ± 0.48 , respectively. The average number of eggs were 177.00 ± 19.07 , 191.75 ± 30.90 and 159.75 ± 22.39 , respectively. The average fertilization rate were 65.56 ± 1.49 , 65.14 ± 1.10 and 64.50 ± 1.66 percent, respectively. The average hatching rate were 57.40 ± 1.36 , 54.05 ± 1.30 and 55.39 ± 0.93 percent, respectively. The average survival rate were 54.51 ± 0.73 , 58.17 ± 1.27 and 57.26 ± 0.91 percent, respectively, and number of fingerling were 36.00 ± 3.34 , 39.00 ± 5.92 and 33.00 ± 5.46 , respectively. The statistic analytical has shown, number of time on spawning, number of eggs, number of fingerling, average fertilization rate, average hatching rate and average survival rate were not significantly difference ($p > 0.05$). The characteristic of eggs were non adhesive demersal egg, round, clear and 0.70-0.80 mm of diameter. Incubation period was 20 hours 9 minute after fertilization at water temperature range of 25.0-28.0 °C. Newly hatched fry had average total length between 2.10-2.30 mm. The external morphology likewise adult was 60 days with average length 20.49 mm. The cost of unit were 8.79, 8.79 and 11.09 baths/fish, respectively. This study was concluded that the breeding of *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999 should be sex ratio by female per male 1:1 because of they are not significantly difference when considering number of time on spawning, number of eggs, fertilization rate, hatching rate, survival rate, number of fingerling and the lowcost of unit.

Key words : *Microdevario kubotai*, breeding, sex ratio

*Corresponding author : moo 7, Kampaeng, Langu, Satun 91110 Tel. 0 7477 5455

e-mail : natch08@hotmail.com

คำนำ

ปลาชีวาตาเขียว (*Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999) เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสวยงาม และหายาก ได้รับการขึ้นทะเบียนในฐานะข้อมูลชนิดพันธุ์ที่ถูกคุกคามในประเทศไทย (Red Data of Thailand) เป็นชนิดพันธุ์ที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ (VU : Vulnerable) และชนิดพันธุ์เฉพาะถิ่น (Endemic species) (Vidthayanon, 2005) โดยพบเฉพาะบางพื้นที่ในลำคลอง และลำธารในเขตจังหวัดระนอง จังหวัดพังงา และในบางพื้นที่ของประเทพม่าเท่านั้น มีลักษณะที่สำคัญคือ มีลำตัวค่อนข้างใส ตัวสีเขียวอมเหลือง มีแถบสีทองเรืองแสง บริเวณด้านข้างลำตัว ท้อง ตา และที่แผ่นปิดเหงือก (Capuli, 2008) มีความยาวมาตรฐาน 1.64 เซนติเมตร (Capuli, 2007) ด้วยลักษณะเด่นดังกล่าวจึงทำให้ปลาชีวาตาเขียวเป็นปลาที่ตลาดปลาสวยงามทั้งในประเทศและต่างประเทศมีความต้องการซื้อสูงและมีราคาแพง โดยมีราคาขายภายในประเทศประมาณตัวละ 25 บาท (ไทยควอเรียมเซ็นเตอร์, 2559) และในต่างประเทศตัวละ 1.75 ปอนด์ (Clarke, 2010) หรือประมาณ 88 บาท

ปัจจุบันภาวะโลกร้อน (Global warming) และกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ทำให้สภาพแวดล้อมของแหล่งน้ำในธรรมชาติมีการเปลี่ยนแปลงหรือเสื่อมโทรมทั้งทางด้านกายภาพและทางเคมี ทำให้แหล่งอาศัย แหล่งวางไข่ และแหล่งเลี้ยงตัวอ่อนของปลาในธรรมชาติลดลง ความเสื่อมโทรมดังกล่าวส่งผลกระทบต่อปลาชีวาตาเขียวซึ่งเป็นปลาที่มีขนาดเล็กมาก และเป็นชนิดพันธุ์เฉพาะถิ่นที่ต้องอยู่อาศัยในแหล่งน้ำที่มีความเหมาะสม ไม่สามารถแพร่กระจายพันธุ์บริเวณอื่น ๆ ได้ รวมทั้งการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรปลาที่มากเกินไปกำลังผลิตของธรรมชาติ จากการสอบถามผู้ค้าปลาสวยงามในตลาดปลาสวยงามสวนจตุจักรและเว็บไซต์จำหน่ายปลาสวยงามต่าง ๆ พบว่าปลาชีวาตาเขียวที่จำหน่ายในประเทศและที่ส่งออกต่างประเทศเป็นปลาที่ได้จากการรวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติและยังไม่มีมีการเพาะพันธุ์ในเชิงพาณิชย์ สอดคล้องกับข้อมูลจากการสัมภาษณ์ผู้รวบรวมปลาชีวาตาเขียวที่พบว่ามีมีการจับปลาจากธรรมชาติเป็นจำนวนมากเพื่อส่งตลาดปลาสวยงามจนในปัจจุบันปลาที่มีในแหล่งน้ำธรรมชาติมีปริมาณลดลงเรื่อย ๆ ผลกระทบจากภาวะดังกล่าวทำให้ปลาชีวาตาเขียวมีความเสี่ยงสูงต่อการสูญพันธุ์จากแหล่งน้ำในธรรมชาติได้ในอนาคต รวมทั้งยังส่งผลกระทบต่อธุรกิจการค้าปลาสวยงามของประเทศ

จากข้อมูลดังกล่าวเห็นได้ว่าปลาชีวาตาเขียวเป็นปลาที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในแง่ของปลาสวยงาม และการอนุรักษ์ ซึ่งการศึกษาถึงวิธีการเพาะพันธุ์ทำให้สามารถผลิตพันธุ์ปลาชีวาตาเขียวจากการเพาะเลี้ยงเพื่อป้อนเข้าสู่ตลาดปลาสวยงามทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ลดปริมาณการจับปลาจากธรรมชาติเพื่อการอนุรักษ์ จากการศึกษาเอกสารพบว่า ปลาชนิดต่าง ๆ มีพฤติกรรมการสืบพันธุ์วางไข่ที่แตกต่างกันไป โดยปลาในวงศ์ย้อย Danioninae ซึ่งเป็นวงศ์ย้อยปลาชีวาตาเขียวเป็นปลาที่มีขนาดเล็ก อยู่รวมกันเป็นฝูง มีการจับคู่ผสมพันธุ์ เพศเมีย 1 ตัว ต่อ เพศผู้ 2-3 ตัว (สุภาพร, 2542) ปลาชีวาตาเขียวขนาดเล็กเพศผู้มีพฤติกรรมการต่อสู้แย่งชิงเพศเมีย ตัวที่ชนะไล่ผสมพันธุ์กับตัวเมียตลอดเวลา ทำให้น้ำเชื้อไม่เพียงพอต่อการผสมพันธุ์ (สุชาติ และอำไพพรรณ, 2551) การเพาะพันธุ์ปลาชีวาตาเขียวทางกรรไกร ใช้อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ที่เหมาะสม คือ 1 ต่อ 1 ตัว หรือ 1 คู่ ต่อตัว (จิรวัดน์, 2550) ปลาในสกุล *Microdevario* มีพฤติกรรมการกินไข่และลูกตัวเอง (Seriouslyfish.com, 2016) การเพิ่มอัตราส่วนปลาพ่อแม่พันธุ์มากขึ้น จึงเป็นการเพิ่มโอกาสความเป็นไปได้

ในการสูญเสียและลูกปลาจากการกินของพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งเห็นได้ว่าอัตราส่วนเพศ มีอิทธิพลอย่างมากต่อประสิทธิภาพการเพาะพันธุ์ปลา ดังนั้นการศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาชีวิตาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน เพื่อให้ทราบถึงผลที่มีต่อจำนวนครั้งในการวางไข่ จำนวนไข่รวม อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย จำนวนลูกปลารวม และต้นทุนการผลิต จึงมีความสำคัญและมีความจำเป็นอย่างยิ่ง โดยทำให้ทราบถึงอัตราส่วนเพศที่เหมาะสมในการเพาะพันธุ์ปลาชีวิตาเขียวให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอัตราส่วนเพศที่เหมาะสมในการเพาะพันธุ์ปลาชีวิตาเขียว
2. ศึกษาคัพภะและพัฒนาการของลูกปลาชีวิตาเขียววัยอ่อน
3. ศึกษาต้นทุนการผลิตปลาชีวิตาเขียวจากการเพาะพันธุ์โดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน

วิธีดำเนินการ

1. การวางแผนการทดลอง

1.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) โดยมี 3 ชุดการทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ โดยทดลองเพาะพันธุ์ปลาชีวิตาเขียวด้วยวิธีเลียนแบบธรรมชาติในตู้กระจก ขนาด 40×40×40 เซนติเมตร ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 การเพาะพันธุ์โดยใช้อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ เท่ากับ 1:1 โดยใช้เพศเมีย 1 ตัว ต่อ เพศผู้ 1 ตัว

ชุดการทดลองที่ 2 การเพาะพันธุ์โดยใช้อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ เท่ากับ 1:2 โดยใช้เพศเมีย 1 ตัว ต่อ เพศผู้ 2 ตัว

ชุดการทดลองที่ 3 การเพาะพันธุ์โดยใช้อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ เท่ากับ 1:3 โดยใช้เพศเมีย 1 ตัว ต่อ เพศผู้ 3 ตัว

1.2 สถานที่และระยะเวลาดำเนินการ

ดำเนินการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสตูล อำเภอละงู จังหวัดสตูล ในระหว่างเดือนสิงหาคม ถึง กันยายน 2557

2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

2.1 การเตรียมตู้ทดลอง

ตู้ทดลองใช้ตู้กระจก ขนาด 40×40×40 เซนติเมตร จำนวน 12 ตู้ ใส่กระชังพลาสติกขนาด 25×25×18 เซนติเมตร ขนาดตากระชัง 0.5 เซนติเมตร ติดฟันทลอยที่ขอบด้านบนค้ำยกระชังขนาดเล็ก สำหรับ

ใส่พ่อแม่พันธุ์เพื่อเป็นวัสดุป้องกันพ่อแม่พันธุ์ปลากินไข่ที่จมอยู่ที่พื้นตู้กระจก เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 48 ลิตร ระดับน้ำลึก 30 เซนติเมตร ใช้ระบบน้ำหมุนเวียนโดยน้ำที่ใช้ไหลผ่านระบบกรองก่อนกลับเข้ามาสู่ตู้ทดลองอีกครั้ง

อุปกรณ์ในการฟักไข่ปลา ใช้ตะกร้าพลาสติกขนาด 13x13x6 เซนติเมตร บุด้วยผ้าโอล่อนแก้ว แล้วติดป้ายหมายเลขเพื่อใช้แยกฟักไข่ที่ได้จากตู้ทดลองแต่ละตู้ เตรียมตู้กระจกขนาด 45x90x45 เซนติเมตร จำนวน 1 ตู้ ติดตั้งระบบให้อากาศและระบบน้ำหมุนเวียนแล้วนำตะกร้าฟักไข่มาใส่ในตู้เดียวกัน ทั้งนี้เพื่อให้ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมในการฟักไข่จากทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน

2.2 การเตรียมปลาทดลอง

รวบรวมพันธุ์ปลาชิวตาเขียวจากลำธารธรรมชาติในเขตอำเภอกระบุรี จังหวัดพังงา โดยคัดเลือกปลาที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีความยาว และน้ำหนักใกล้เคียงกัน จำนวนเพศเมีย 500 ตัว เพศผู้ 500 ตัว จากนั้นนำมาเลี้ยงแบบแยกเพศในตู้กระจกที่มีระบบน้ำหมุนเวียน เพื่อให้สมบูรณ์เพศและคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมของตู้ทดลอง เป็นเวลา 3 เดือน แล้วคัดเลือกปลาเพศเมีย 30 ตัว เพศผู้ 50 ตัว ที่มีน้ำหนัก ความยาว และความสมบูรณ์เพศ ไม่แตกต่างกัน โดยปลาเพศเมียมีความยาวเฉลี่ย 2.55 ± 0.02 เซนติเมตร มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.20 ± 0.003 กรัม ปลาเพศผู้มีความยาวเฉลี่ย 2.30 ± 0.01 เซนติเมตร มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.15 ± 0.002 กรัม แล้วปล่อยลงตู้ทดลองที่เตรียมไว้โดยวิธีการสุ่ม แต่ละตู้ทดลองกำหนดให้จำนวนปลาเพศเมียเท่ากันทุกตู้ แต่จำนวนปลาเพศผู้แตกต่างกันตามอัตราส่วนที่กำหนด โดยมีอัตราปล่อยดังนี้

- ชุดการทดลองที่ 1 เพศเมีย 1 ตัว เพศผู้ 1 ตัว
- ชุดการทดลองที่ 2 เพศเมีย 1 ตัว เพศผู้ 2 ตัว
- ชุดการทดลองที่ 3 เพศเมีย 1 ตัว เพศผู้ 3 ตัว

2.3 อาหารและการให้อาหาร

ให้ไรแดงมีชีวิตที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค โดยการแช่ต่างบัพทิมความเข้มข้น 2-3 ส่วนในล้านส่วน วันละ 2 ครั้ง เวลา 09.00-10.00 น. และเวลา 15.30-16.30 น. ดูดตะกอนพื้นตู้ทุกวันในตอนเช้าก่อนให้อาหาร

2.4 การเพาะพันธุ์

เพาะพันธุ์ปลาชิวตาเขียวโดยวิธีเลียนแบบธรรมชาติในตู้กระจกโดยใส่พ่อแม่พันธุ์ปลาตามแผนการทดลองที่วางไว้ ใช้ระยะเวลาในการเพาะพันธุ์ 2 เดือน (ภาพผนวกที่ 3)

2.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ

ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำในตู้ทดลองทุก 7 วัน ตลอดการทดลอง ในส่วนของตู้ฟักไข่ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทุกวันที่มีการฟักไข่ โดยมีวิธีการดังนี้

- อุณหภูมิ (temperature) วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ มีหน่วยเป็น องศาเซลเซียส
- ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) วัดโดยใช้ pH meter ยี่ห้อ Hanna รุ่น HI 991001
- ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร วัดโดยใช้

DO meter ยี่ห้อ Extech รุ่น 407510-P

- ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) วิเคราะห์โดยวิธีไตเตรท ตามวิธีที่กล่าวอ้างโดยไมตรีและจรรูวรรณ (2528) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3

- ค่าความกระด้าง (hardness) วิเคราะห์โดยวิธีไตเตรท ตามวิธีที่กล่าวอ้างโดยไมตรีและจารุวรรณ (2528) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3

- แอมโมเนียรวม (total ammonia) วิเคราะห์โดยวิธี phenate method ตามวิธีที่กล่าวอ้างโดยไมตรี และจารุวรรณ (2528) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ spectrophotometer ยี่ห้อ Hach รุ่น DR/2000

2.6 การเก็บรวบรวมข้อมูล

ตรวจสอบการวางไข่ของปลาทุกวัน โดยเมื่อปลาวางไข่ ไข่ปลาจะจมอยู่ที่ก้นตู้ทดลอง ใช้สายยางดูดไข่ออกมา แล้วนำไปฟักในตะกร้าฟักไข่ จัดบันทึกและรวบรวมข้อมูล โดยรวบรวมข้อมูลดังต่อไปนี้

- จำนวนไข่ต่อครั้ง

- จำนวนไข่รวม = จำนวนไข่ทั้งหมดในแต่ละตู้ ในระยะเวลา 2 เดือน

- อัตราการปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์) โดยการใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$= \frac{\text{จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมด}} \times 100$$

- อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์) โดยการใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$= \frac{\text{จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัว}}{\text{จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ}} \times 100$$

- อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) โดยการใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$= \frac{\text{จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่เหลือรอด (อายุ 5 วัน) (ตัว)}}{\text{จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัว (ตัว)}} \times 100$$

- จำนวนครั้งในการวางไข่ = จำนวนครั้งในการวางไข่ในแต่ละตู้ ในระยะเวลา 2 เดือน

- จำนวนลูกปลารวม = จำนวนลูกปลารวมในแต่ละตู้ ในระยะเวลา 2 เดือน

2.7 การศึกษาศักยภาพและพัฒนาการลูกปลาวัยอ่อน

ศึกษาพัฒนาการของศักยภาพ โดยดำเนินการเพาะพันธุ์ปลาวัยอ่อนแยกจากชุดทดลองเพื่อนำไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ มาศึกษาพัฒนาการของศักยภาพจนกระทั่งฟักเป็นตัว โดยศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า บันทึกภาพ และระยะเวลา ติดตามพัฒนาการของลูกปลาจนมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย เก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาพัฒนาการของลูกปลาวัยอ่อน ตามวิธีของอภิชาติ (2546) ดังนี้

ระยะที่ 1 ลูกปลาที่เพิ่งฟักจากไข่ โดยเก็บตั้งแต่ฟักออกจากไข่ใหม่ ๆ อายุ 6 ชั่วโมง

ระยะที่ 2 ลูกปลาที่มีถุงอาหารสำรองปรากฏอยู่ อายุ 1, 2 และ 5 วัน

ระยะที่ 3 ลูกปลาวัยอ่อนระยะแรก อายุ 7, 12 และ 15 วัน

ระยะที่ 4 ลูกปลาวัยอ่อนระยะหลัง อายุ 23, 27 และ 31 วัน

ระยะที่ 5 ลูกปลาขนาดเล็ก อายุ 35, 40, 50 และ 60 วัน

วิธีการเก็บคือ เก็บลูกปลาในแต่ละระยะตามอายุ จำนวน 3 ตัว ใส่ในน้ำยาฟอมาลินเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 15 วัน จึงเปลี่ยนเป็นฟอมาลินเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ในแต่ละขวดบันทึกรายละเอียดชนิดปลา อายุ วันที่เก็บ ทำการศึกษาตัวอย่างต่อไป โดยศึกษาผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

(stereo microscope) ที่ประกอบด้วยอุปกรณ์วาดภาพ (camera lucida) และ micrometer สำหรับวาดภาพลูกปลาระยะต่าง ๆ

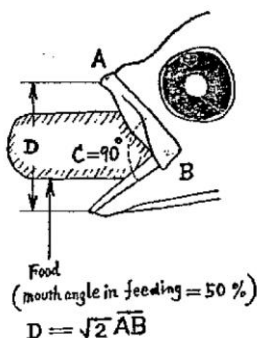
วัดขนาดปากลูกปลาวัยอ่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำตามวิธีการของ Shirota (1970)

ดังสมการ

$$D = \sqrt{2} \overline{AB}$$

D = ความกว้างของปากลูกปลาจากขากรรไกรบนถึงขากรรไกรล่าง (มิลลิเมตร)

$\overline{AB}$ = ความยาวของขากรรไกรบน (มิลลิเมตร)



ภาพที่ 1 การวัดขนาดปากลูกปลาวัยอ่อนตามวิธีการของ Shirota (1970)

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่รวบรวมได้จากการตรวจสอบผลในแต่ละวันของการศึกษาได้นำมาวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

3.1 จำนวนครั้งในการวางไข่ (ครั้ง) = จำนวนครั้งในการวางไข่ปลาชีวิตาเขียวในแต่ละตู้
รวมระยะเวลา 2 เดือน

3.2 จำนวนไข่รวม (ฟอง) = จำนวนไข่ปลาชีวิตาเขียวในแต่ละตู้ รวมระยะเวลา 2 เดือน

3.3 อัตราการปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง)}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมด (ฟอง)}} \times 100$

3.4 อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัว (ตัว)}}{\text{จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง)}} \times 100$

3.5 อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่เหลือรอด (อายุ 5 วัน) (ตัว)}}{\text{จำนวนลูกปลาวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัว (ตัว)}} \times 100$

3.6 จำนวนลูกปลารวม (ตัว) = จำนวนลูกปลาชีวิตาเขียวรวมในแต่ละตู้
รวมระยะเวลา 2 เดือน

การวิเคราะห์ผลการศึกษาทางสถิติ

ทดสอบความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลจำนวนครั้งที่วางไข่ จำนวนไข่รวม จำนวนลูกปลารวม อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตราการรอดตาย โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA)

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองที่ใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกันโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

4. การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต

ต้นทุนการผลิตปลาชีวาเขียวจากการเพาะพันธุ์โดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน วิเคราะห์จากต้นทุนคงที่และต้นทุนผันแปรทั้งส่วนที่เป็นเงินสดและไม่เป็นเงินสด โดยส่วนของต้นทุนคงที่ คำนวณค่าเสื่อมราคาอุปกรณ์ โดยใช้วิธีคิดค่าเสื่อมราคาแบบเส้นตรง (straight line - depreciation method) กำหนดให้มูลค่าเป็นศูนย์เมื่อหมดอายุการใช้งาน ส่วนค่าเสียโอกาสเงินลงทุน คำนวณจากอัตราดอกเบี้ยเงินฝากประจำ 3 เดือนของธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร ประจำเดือนกรกฎาคม 2557 ตามวิธีของสมศักดิ์ (2530) ข้อมูลที่วิเคราะห์มีดังนี้

- ต้นทุนทั้งหมด = ต้นทุนคงที่ + ต้นทุนผันแปร
- ต้นทุนคงที่ = ค่าเสื่อมราคาอุปกรณ์ + ค่าเสียโอกาสในการลงทุน
- ต้นทุนผันแปร = ค่าพ่อแม่พันธุ์ปลา + ค่าอาหารปลา + ค่าแรงงาน + ค่าไฟฟ้า + ค่าสารเคมีวิเคราะห์น้ำ + ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน
- ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน = ค่าที่คำนวณจากอัตราดอกเบี้ยเงินฝากประจำ 3 เดือนของธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร ประจำเดือนกรกฎาคม 2557 ในอัตรา ร้อยละ 1.15 ต่อปี ของเงินลงทุนทุกประเภท
- ค่าเสื่อมราคา =
$$\frac{\text{มูลค่าซื้อหรือสร้าง}}{\text{อายุการใช้งาน}}$$
- ต้นทุนการผลิต (บาทต่อตัว) =
$$\frac{\text{ต้นทุนทั้งหมด (บาท)}}{\text{จำนวนปลาที่ได้ทั้งหมด (ตัว)}}$$

ผลการศึกษา

1. การเพาะพันธุ์

1.1 จำนวนครั้งในการวางไข่

จำนวนครั้งในการวางไข่ของปลาชีวาเขียวในอัตราส่วนเพศเมีย : เพศผู้ 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.00 ± 0.41 , 4.25 ± 0.48 และ 4.25 ± 0.48 ครั้ง ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

1.2 จำนวนไข่รวม

จำนวนไข่รวมของปลาชีวาตาเขียวในอัตราส่วนเพศเมีย : เพศผู้ 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 177.00 ± 19.07 , 191.75 ± 30.90 และ 159.75 ± 22.39 ฟอง ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

1.3 อัตราการปฏิสนธิ

อัตราการปฏิสนธิของไข่ปลาชีวาตาเขียวในอัตราส่วนเพศเมีย : เพศผู้ 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 65.56 ± 1.49 , 65.14 ± 1.10 และ 64.50 ± 1.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

1.4 อัตราการฟัก

อัตราการฟักของไข่ปลาชีวาตาเขียวในอัตราส่วนเพศเมีย : เพศผู้ 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 57.40 ± 1.36 , 54.05 ± 1.30 และ 55.39 ± 0.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

1.5 อัตราการรอดตาย (ลูกปลาอายุ 5 วัน)

อัตราการรอดตายของลูกปลาชีวาตาเขียวในอัตราส่วนเพศเมีย : เพศผู้ 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 54.51 ± 0.73 , 58.17 ± 1.27 และ 57.26 ± 0.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

1.6 จำนวนลูกปลารวม

จำนวนลูกปลารวมของปลาชีวาตาเขียวในอัตราส่วนเพศเมีย : เพศผู้ 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 36.00 ± 3.34 , 39.00 ± 5.92 และ 33.00 ± 5.46 ตัว เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) ของการเพาะพันธุ์ปลาชีวาตาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน

ผลการเพาะพันธุ์	อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ (ตัว)		
	1:1	1:2	1:3
จำนวนครั้งในการวางไข่เฉลี่ย (ครั้ง)	4.00 ± 0.41^a	4.25 ± 0.48^a	4.25 ± 0.48^a
จำนวนไข่รวมเฉลี่ย (ฟอง)	177.00 ± 19.07^a	191.75 ± 30.90^a	159.75 ± 22.39^a
อัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)	65.56 ± 1.49^a	65.14 ± 1.10^a	64.50 ± 1.66^a
อัตราการฟักเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)	57.40 ± 1.36^a	54.05 ± 1.30^a	55.39 ± 0.93^a
อัตราการรอดตายเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)	54.51 ± 0.73^a	58.17 ± 1.27^a	57.26 ± 0.91^a
จำนวนลูกปลารวมเฉลี่ย (ตัว)	36.00 ± 3.34^a	39.00 ± 5.92^a	33.00 ± 5.46^a

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

2. พัฒนาการของคัพพะปลาชีวิตาเขียว

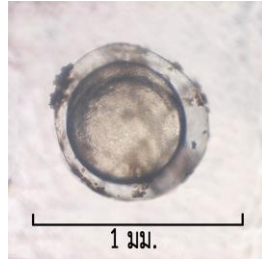
ลักษณะของไข่ปลาชีวิตาเขียว เป็นไข่ประเภทจมไม่ติดวัสดุ มีรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.70-0.80 มิลลิเมตร ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วมีสีขาวใส ส่วนไข่ที่ไม่สมบูรณ์และไม่ได้รับการปฏิสนธิมีลักษณะทึบแสง สีขาวขุ่น มีพัฒนาการคัพพะสรูปดังนี้ ระยะ Cleavage ใช้เวลา 2 ชั่วโมง 5 นาที ระยะ Blastula ใช้เวลา 2 ชั่วโมง 45 นาที ระยะ Gastrula ใช้เวลา 3 ชั่วโมง 55 นาที ระยะ Somite ใช้เวลา 5 ชั่วโมง 15 นาที ระยะ Optic bud ใช้เวลา 6 ชั่วโมง 30 นาที ระยะ Heart formation ใช้เวลา 8 ชั่วโมง 25 นาที และเริ่มฟักออกเป็นตัวใช้เวลา 20 ชั่วโมง 9 นาที ที่อุณหภูมิ น้ำ 25.0-28.0 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 2 พัฒนาการคัพพะของปลาชีวิตาเขียว

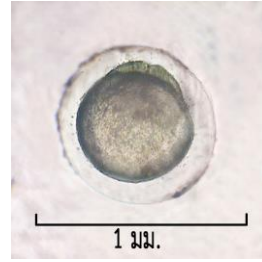
ระยะ	ระยะเวลาหลังจากไข่ได้รับการปฏิสนธิ	ภาพที่	ขั้นตอนการพัฒนาการ
1 cell	30 นาที	2 ก.	One cell stage : ไข่ปลาหลังจากได้รับการผสมพบว่าส่วนของ animal pole เป็นเซลล์นูนขึ้นมาเกิดเป็น blastodisc มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว
Cleavage	37 นาที	2 ข.	First cleavage stage : มีการแบ่งเซลล์ blastodisc เป็นเซลล์ blastomere 2 เซลล์ เท่า ๆ กัน เซลล์มีขนาดเล็กลงครึ่งหนึ่ง
	47 นาที	2 ค.	Second cleavage stage : มีการแบ่งเซลล์ blastomere เพิ่มขึ้นเป็น 4 เซลล์ ขนาดเท่า ๆ กัน มีขนาดเล็กกว่าเซลล์เดิมครึ่งหนึ่ง
	56 นาที	2 ง.	Third cleavage stage : มีการแบ่งเซลล์ blastomere ออกเป็น 8 เซลล์ มีขนาดเล็กลงครึ่งหนึ่ง
	1 ชั่วโมง 3 นาที	2 จ.	Fourth cleavage stage : มีการแบ่งเซลล์ blastomere เพิ่มขึ้นเป็น 16 เซลล์ มีขนาดเล็กลงครึ่งหนึ่ง
	1 ชั่วโมง 15 นาที	2 ฉ.	Fifth cleavage stage : มีการแบ่งเซลล์ blastomere ออกเพิ่มเป็น 32 เซลล์ เซลล์เริ่มมีขนาดไม่เท่ากัน
	1 ชั่วโมง 35 นาที	2 ช.	Sixth cleavage stage : มีการแบ่งเซลล์ blastomere ออกเพิ่มเป็น 64 เซลล์ และชั้นเซลล์มีความหนามากขึ้น
	2 ชั่วโมง 5 นาที	2 ซ.	Morula stage : blastomere แบ่งเป็นเซลล์เล็ก ๆ จำนวนมากซ้อนกันหนาและเบียดกันแน่น ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายของ cleavage stage

ตารางที่ 2 พัฒนาการคัพพะของปลาชีวาเขียว (ต่อ)

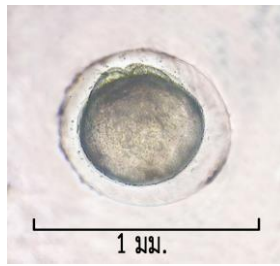
ระยะ	ระยะเวลาหลังจากไข่ ได้รับการปฏิสนธิ	ภาพที่	ขั้นตอนการพัฒนาการ
Blastula	2 ชั่วโมง 45 นาที	2 ฉ.	Blastula stage : blastodisc เริ่มเคลื่อนลงมาคลุม nucleus มีเซลล์รวมกันหนาขึ้นยกตัวจนมีลักษณะนูน และเกิดช่องว่างภายใน (blastocoel)
Gastrula	3 ชั่วโมง 5 นาที	2 ฉ.	Early gastrula stage : ขอบของ blastodisc มีการจัดเรียงตัวที่หนาขึ้นโดยรอบทำให้เกิดลักษณะคล้ายวงแหวน เรียกว่า germ ring
	3 ชั่วโมง 55 นาที	2 ฉ.	Late gastrula stage : กลุ่มเซลล์เคลื่อนลงคลุม yolk จนเกือบหมด เตรียมสร้าง head bud และ tail bud เมื่อสิ้นสุดระยะ gastrula กลุ่มเซลล์เคลื่อนมาคลุมไข่แดงทั้งหมด ซึ่งเป็นระยะ Blastopore ปิด
Head bud and tail bud	4 ชั่วโมง 20 นาที	2 ฉ.	เนื้อเยื่อเจริญมากขึ้นทำให้เกิดเป็นตัวอ่อน (embryo) รูปร่างคล้ายวงแหวน ส่วนหัวและส่วนท้ายยกขึ้น เกิดเป็นปุ่มหัวและปุ่มหาง
Somite	5 ชั่วโมง 15 นาที	2 ฉ.	Somite stage : เนื้อเยื่อชั้น ectoderm, mesoderm และ endoderm เกิดเป็นตัว embryo โดยส่วนปลายทั้งสองข้างพัฒนาไปเป็น head bud และ tail bud ส่วนตอนกลางมี somite เกิดขึ้นด้านข้างของ embryo ซึ่งพัฒนาต่อไปเป็นกล้ามเนื้อ
Optic bud	6 ชั่วโมง 30 นาที	2 ท.	Optic bud stage : ส่วนของ head bud เจริญมากขึ้นเกิด optic vesicle มีลักษณะเป็นวงใสอยู่บริเวณ head bud ซึ่งพัฒนาต่อไปเป็นลูกตาของปลา
Caudal vesicle	7 ชั่วโมง 20 นาที	2 ฉ.	Caudal vesicle stage : เกิด caudal vesicle เห็น optic bud ชัดเจนขึ้น ส่วนหางยืดยาวเพิ่มขึ้น
Heart formation	8 ชั่วโมง 25 นาที	2 ฉ.	Heart formation stage : เกิดหัวใจลักษณะเป็นปุ่ม หัวใจและกล้ามเนื้อเริ่มทำงาน ตัวอ่อนมีการเคลื่อนไหวเป็นบางครั้ง
Hatch-out	20 ชั่วโมง 9 นาที	2 ค.	Hatch-out stage : ลูกปลาฟักออกเป็นตัว โดยใช้ส่วนหางเคลื่อนไหวทำให้ผนังไข่แตกออก เมื่อฟักเป็นตัวใหม่ ๆ ลูกปลามีถุงไข่แดงขนาดใหญ่ติดกับส่วนหัว ปากยังไม่เปิด ลำตัวใส เยื่อหุ้มตัวแนบตั้ง (fin fold) ติดกันเป็นแผ่นยาวต่อกันทั้งด้านบนและด้านล่าง ลูกปลามีความยาวเฉลี่ย 2.10-2.30 มิลลิเมตร มีการเคลื่อนไหวเป็นครั้งคราว



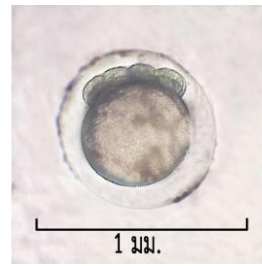
ก. One cell stage
30 นาที



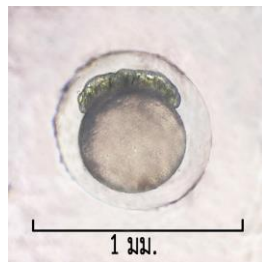
ข. First cleavage stage
37 นาที



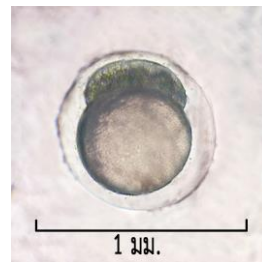
ค. Second cleavage stage
47 นาที



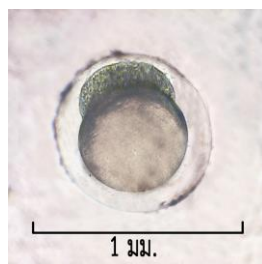
ง. Third cleavage stage
56 นาที



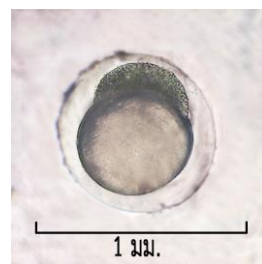
จ. Fourth cleavage stage
1 ชั่วโมง 3 นาที



ฉ. Fifth cleavage stage
1 ชั่วโมง 15 นาที

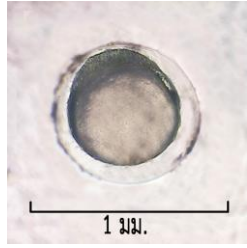


ช. Sixth cleavage stage
1 ชั่วโมง 35 นาที

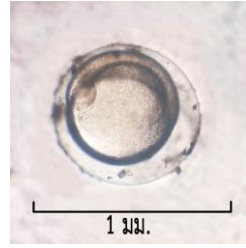


ซ. Morula stage
2 ชั่วโมง 5 นาที

ภาพที่ 2 พัฒนาการของคัพภะปลาชิวตาเขียว



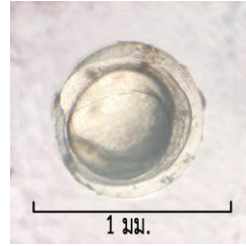
ณ. Blastula stage
2 ชั่วโมง 45 นาที



ญ. Gastrula stage
3 ชั่วโมง 5 นาที



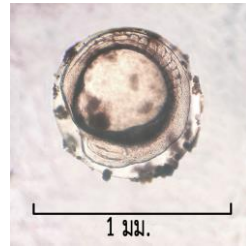
ฎ. Late gastrula stage
3 ชั่วโมง 55 นาที



ฏ. Head bud and tail bud
stage 4 ชั่วโมง 20 นาที



ฐ. Somite stage
5 ชั่วโมง 15 นาที



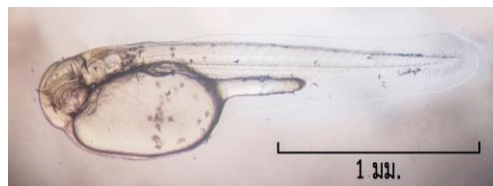
ฑ. Optic bud stage
6 ชั่วโมง 30 นาที



ฒ. Caudal vesicle stage
7 ชั่วโมง 20 นาที



ณ. Heart formation stage
8 ชั่วโมง 25 นาที



ด. Hatch - out stage
20 ชั่วโมง 9 นาที

ภาพที่ 2 พัฒนาการของคัพพะปลาชีวิตาเขียว (ต่อ)

3. พัฒนาการของลูกปลาชีวาตาเขียววัยอ่อน

ลูกปลาชีวาตาเขียวแรกฟักเป็นตัวใหม่ ๆ มีส่วนหัวติดกับถุงไข่แดงขนาดใหญ่ ปากยังไม่เปิด ลำตัวสีเห็นมดกล้ำมเนื้อชัดเจน มีเยื่อหุ้มตัวแนวดั้ง (fin fold) ติดกันเป็นแผ่นยาวต่อกันทั้งด้านบนและด้านล่าง ในระยะ 3 วันแรกลูกปลาเกาะนิ่งติดกับขอบตู้ทดลอง มีการเคลื่อนไหวบ้างเป็นครั้งคราว เริ่มว่ายน้ำเมื่ออายุ 4 วัน และเริ่มกินอาหารได้เมื่ออายุ 5 วัน มีความกว้างของปาก 0.35 มิลลิเมตร หลังจากนั้นมีการพัฒนาอวัยวะต่าง ๆ จนมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย และก้านครีบพัฒนาสมบูรณ์เมื่ออายุ 60 วัน (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3)

ตารางที่ 3 พัฒนาการของลูกปลาชีวาตาเขียววัยอ่อน

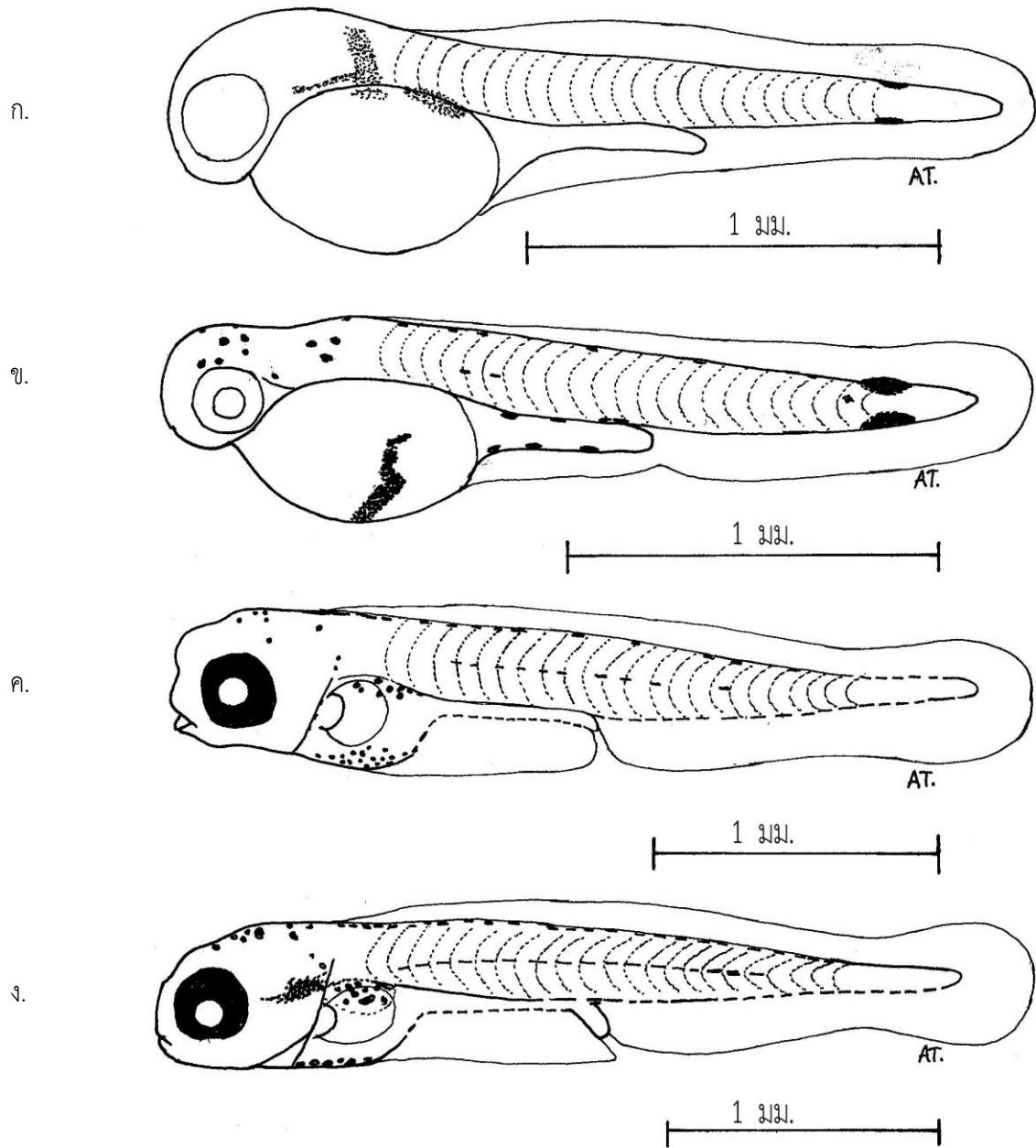
อายุลูกปลา	ภาพที่	ขั้นตอนการพัฒนากการ
6 ชั่วโมง	3 ก.	ลูกปลามีขนาดยาว 2.11 มิลลิเมตร ลำตัวใส รูปร่างเรียวยาว ส่วนหัวยังไม่แยกจากถุงอาหารสำรอง ตาเริ่มพัฒนาเป็นตุ่มเนื้อเยื่อวงกลมแต่ยังไม่มีจุดสีดำเกิดขึ้น ปากยังไม่มีการพัฒนา มีถุงอาหารสำรอง (yolk sac) ตอนหน้าขนาดใหญ่ลักษณะกลมรีและลดขนาดลงจนไปกับความยาวของลำตัว ลำตัวมีมดกล้ำมเนื้อ ทั้งหมด 22 มัด ระบบทางเดินอาหารยังไม่เจริญ ยังไม่มีช่องเปิดของระบบทางเดินอาหาร มีเยื่อหุ้มตัวแนวดั้ง (fin fold) ต่อกันหมดทั้งด้านบนและด้านล่าง มีจุดดำ (melanophore) เป็นแถบบริเวณส่วนหน้าของมดกล้ำมเนื้อที่ 1 ส่วนบนของถุงอาหารสำรอง และส่วนปลายของมดกล้ำมเนื้อที่ 22 ทั้งด้านบนและด้านล่าง
1 วัน	3 ข.	ลูกปลามีขนาดยาว 2.36 มิลลิเมตร ลำตัวใส ส่วนหัวยาวขึ้น ตาเริ่มมีพัฒนาเป็นวงกลมสีดำเกิดขึ้นภายในตุ่มเนื้อเยื่อตา ปากเริ่มมีการพัฒนา ถุงอาหารสำรองมีขนาดเล็กลงและมีจุดสีดำเป็นแถบบริเวณส่วนล่าง เกิดจุดสีดำบริเวณด้านบนของส่วนหัวและลำตัว แถบจุดสีดำบริเวณปลายของมดกล้ำมเนื้อที่ 22 ทั้งด้านบนและด้านล่างมีขนาดใหญ่ขึ้น เยื่อหุ้มตัวแนวดั้งด้านล่างเริ่มเว้าบริเวณส่วนปลายของท่อทางเดินอาหารซึ่งตรงกับมดกล้ำมเนื้อที่ 12
2 วัน	3 ค.	ลูกปลามีขนาดยาว 3.05 มิลลิเมตร ลำตัวใส เกิดเส้นข้างลำตัวที่ยังไม่สมบูรณ์ ส่วนหัวยืดยาวขึ้นแยกออกจากถุงอาหารสำรอง ตาเป็นวงกลมสีดำขนาดใหญ่ ปากเปิดกว้าง 0.32 มิลลิเมตร เกิดครีบลูกลักษณะทรงกลมยังไม่มีก้านครีบ กระดุกกระพุงแก้ม (operculum) เริ่มมีการพัฒนา ถุงอาหารสำรองมีขนาดเล็กลงมาก เกิดจุดสีดำกระจายบริเวณด้านบนส่วนหัว เยื่อช่องท้องและตลอดแนวยาวของด้านบนลำตัว มีช่องเปิดท่อทางเดินอาหารอยู่ที่มดกล้ำมเนื้อที่ 8 เยื่อหุ้มตัวแนวดั้งส่วนท้ายทั้งด้านบนและด้านล่างเริ่มเว้าเพื่อพัฒนาเป็นครีบกัน ครีบหาง และครีบหลัง

ตารางที่ 3 พัฒนาการของลูกปลาชีวาตาเขียววัยอ่อน (ต่อ)

อายุลูกปลา	ภาพที่	ขั้นตอนการพัฒนากการ
5 วัน	3 ง.	ลูกปลามีขนาดยาว 3.22 มิลลิเมตร ลำตัวใส ส่วนหัวยืดยาวขึ้นแยกออกจาก ถุงอาหารสำรอง ตาเป็นวงกลมสีดำขนาดใหญ่ ปากเปิดกว้าง 0.35 มิลลิเมตร เกิดครีบทูลักษณะทรงกลมรียาวขึ้น กระดุกกระพุงแก้มมีการพัฒนามากขึ้นและมี จุดสีดำรวมกันเป็นกลุ่ม ถุงอาหารสำรองยุบตัวหมด มีช่องเปิดต่อทางเดินอาหารอยู่ ที่มัดกล้ามเนื้อที่ 10 เยื่อหุ้มตัวแนวดังส่วนท้ายทั้งด้านบนและด้านล่างเว้ามากขึ้น กว่าเดิม เกิดจุดสีดำมากขึ้นในบริเวณด้านบนส่วนหัว เยื่อช่องท้อง และตลอด แนวยาวของด้านบนลำตัว
7 วัน	3 จ.	ลูกปลามีขนาดยาว 3.78 มิลลิเมตร ลำตัวใสมีมัดกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นเป็น 27 มัด ตาเป็นวงกลมสีดำขนาดใหญ่ ปากเปิดกว้าง 0.37 มิลลิเมตร ครีบทูลักษณะทรงรี ยาวขึ้น กระดุกกระพุงแก้มมีการพัฒนามากขึ้นและมีจุดสีดำเป็นเส้น เกิดจุดสีดำ มากขึ้นในบริเวณด้านบนส่วนหัว เยื่อช่องท้อง และตลอดแนวยาวของด้านบน ลำตัว มีช่องเปิดต่อทางเดินอาหารอยู่ที่มัดกล้ามเนื้อที่ 13
12 วัน	3 ฉ.	ลูกปลามีขนาดยาว 4.06 มิลลิเมตร ลำตัวใสมีมัดกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นเป็น 28 มัด ตาเป็นวงกลมสีดำขนาดใหญ่ ปากเปิดกว้าง 0.41 มิลลิเมตร ครีบทูลักษณะใหญ่ขึ้น กระดุกกระพุงแก้มมีการพัฒนามากขึ้นและมีจุดสีดำเป็นเส้น บริเวณส่วนล่างกระดุก หางเริ่มมีการพัฒนาของฐานครีบทาง เยื่อหุ้มตัวแนวดังทั้งด้านบนและด้านล่างและ ส่วนหางขยายกว้างขึ้นเพื่อพัฒนาเป็นครีบท้อง ครีบทาง และครีบก้น
15 วัน	3 ช.	ลูกปลามีขนาดยาว 4.54 มิลลิเมตร ลำตัวใสมีมัดกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นเป็น 29 มัด ตาเป็นวงกลมสีดำขนาดใหญ่ ปากเปิดกว้าง 0.51 มิลลิเมตร มีจุดสีดำเป็นกระจาย บริเวณด้านบนของส่วนหัว และเยื่อช่องท้อง บริเวณกระพุงแก้มมีจุดสีเรียงกัน บริเวณส่วนล่างกระดุกหางมีการพัฒนาของฐานครีบทางมากขึ้น
17 วัน	3 ซ.	ลูกปลามีขนาดยาว 5.59 มิลลิเมตร ลำตัวใสมีมัดกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นเป็น 33 มัด ปากเปิดกว้าง 0.57 มิลลิเมตร มีจุดสีดำเป็นกระจายบริเวณด้านบนของส่วนหัว และ เยื่อช่องท้องมากขึ้น บริเวณกระพุงแก้มมีจุดสีเรียงเป็นเส้นยาว เริ่มมีการพัฒนา ของฐานครีบท้อง กระดุกหางโค้งขึ้น มีการพัฒนาของก้านครีบทางเป็นเส้นยาว ชัดเจน และปลายครีบทางเริ่มแยกเป็นสองแฉก
23 วัน	3 ฅ.	ลูกปลามีขนาดยาว 5.71 มิลลิเมตร ปากเปิดกว้าง 0.62 มิลลิเมตร เยื่อหุ้มลำตัวทั้ง ด้านบนและด้านล่างพัฒนาเป็นครีบท้องและครีบก้น เริ่มมีก้านครีบท้องที่ยังไม่สมบูรณ์ เกิดขึ้น ครีบทางมีขนาดใหญ่ขึ้น ก้านครีบทางมีความยาวและเพิ่มจำนวนมากขึ้น มีจุดสีดำกระจายเป็นแถบติดที่ก้านครีบทาง

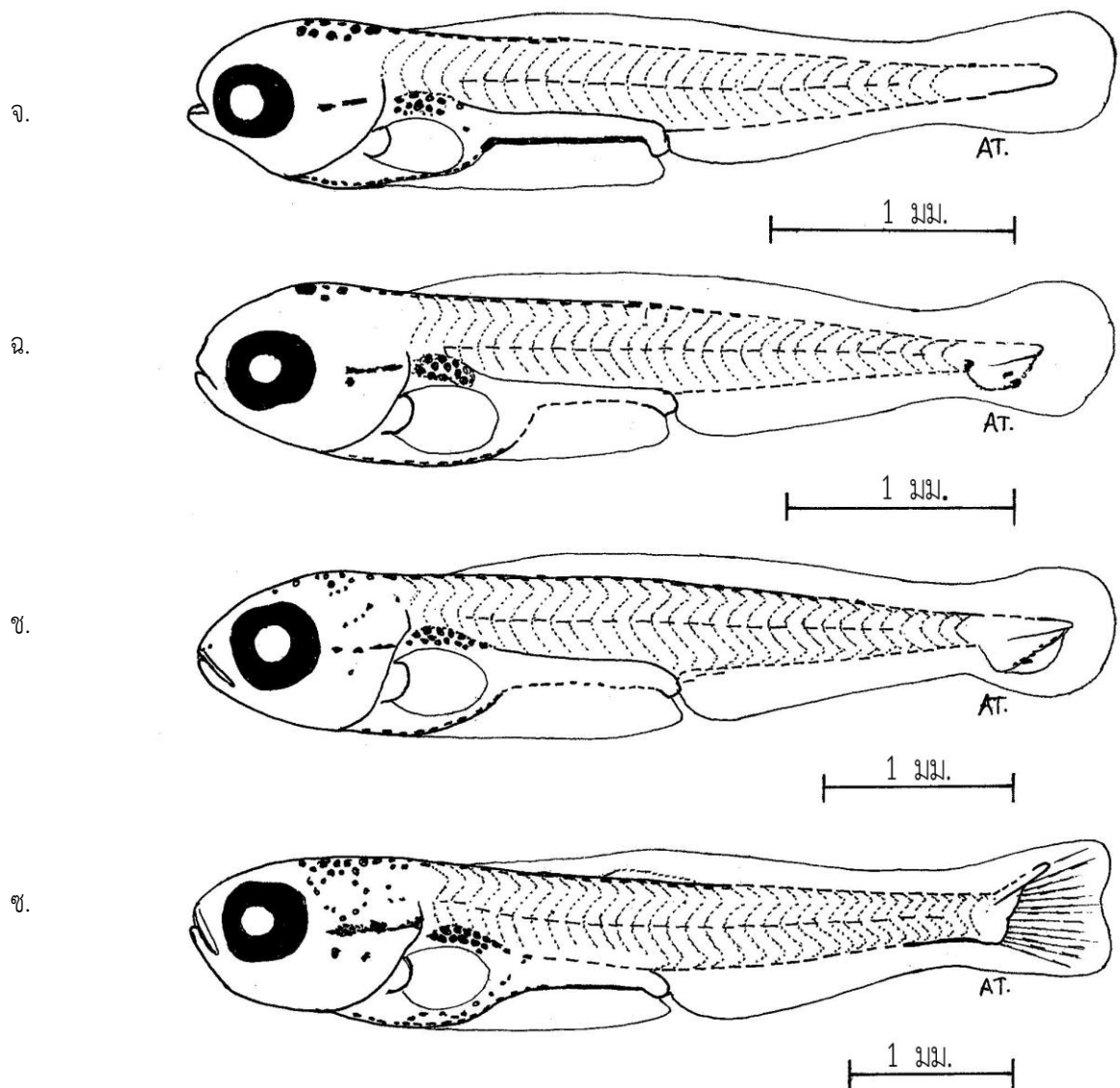
ตารางที่ 3 พัฒนาการของลูกปลาชีวาเขียววัยอ่อน (ต่อ)

อายุลูกปลา	ภาพที่	ขั้นตอนการพัฒนากการ
27 วัน	3 ญ	ลูกปลามีขนาดยาว 7.02 มิลลิเมตร ปากเปิดกว้าง 0.67 มิลลิเมตร เริ่มมีการพัฒนาของครีบท้อง เยื่อหุ้มลำตัวด้านบนแยกออกเป็นครีบหลังชัดเจน เยื่อหุ้มตัวแนวดังส่วนล่างขยายกว้างออกเป็นครีบกัน ก้านครีบมีการพัฒนามากขึ้น ครีบหางมีขนาดใหญ่และยาวขึ้น แยกออกเป็นสองแฉกชัดเจน มีจุดสีดำกระจายทั่วบริเวณส่วนหัวและเยื่อช่องท้อง
31 วัน	3 ฎ	ลูกปลามีขนาดยาว 9.12 มิลลิเมตร ปากเปิดกว้าง 0.77 มิลลิเมตร ตามีการพัฒนามากขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้น ครีบหูและครีบท้องมีขนาดใหญ่ขึ้นโดยมีก้านครีบที่ยังไม่สมบูรณ์ เยื่อหุ้มลำตัวแนวดังหดและแยกออกจากกันเป็นครีบหลัง ครีบหางครีบก้นอย่างชัดเจน มีจุดสีดำกระจายทั่วบริเวณด้านบนของส่วนหัว และเยื่อช่องท้องมากขึ้น
35 วัน	3 ฏ	ลูกปลามีขนาดยาว 13.33 มิลลิเมตร ปากเปิดกว้าง 0.92 มิลลิเมตร ครีบต่าง ๆ มีขนาดใหญ่และยาวขึ้น มีจุดสีดำกระจายทั่วตัว ยกเว้นด้านล่างของส่วนหัวและส่วนท้อง โดยมีจุดสีดำหนาแน่นบริเวณด้านบนของส่วนหัว และแนวเส้นข้างลำตัว
40 วัน	3 ฐ	ลูกปลามีขนาดยาว 15.53 มิลลิเมตร ปากเปิดกว้าง 1.00 มิลลิเมตร มีการพัฒนาของรูจมูก 2 รู ชิดติดกัน และเริ่มมีการพัฒนาของเกล็ดส่วนบนของลำตัว มีการแตกแขนงของส่วนปลายก้านครีบหางและก้านครีบก้น เกิดจุดสีดำเป็นแนวบริเวณท้อง
50 วัน	3 ท.	ลูกปลามีขนาดยาว 18.78 มิลลิเมตร ปากเปิดกว้าง 1.01 มิลลิเมตร รูจมูก 2 รูเริ่มแยกออกจากกัน และเริ่มมีการพัฒนาของเกล็ดส่วนบนของลำตัว มีการแตกแขนงของส่วนปลายก้านครีบก้น ครีบก้นเกิดจุดสีหนาแน่นมากขึ้นบริเวณด้านบนของส่วนหัวและแนวเส้นข้างลำตัว
60 วัน	3 ฒ.	ลูกปลามีขนาดยาว 20.49 มิลลิเมตร ปากเปิดกว้าง 1.15 มิลลิเมตร รูจมูก 2 รูแยกออกจากกันชัดเจน เกล็ดปกคลุมทั่วตัว เกล็ดมีขนาดค่อนข้างใหญ่เมื่อเทียบกับขนาดตัว ครีบท้องมีการแตกแขนงของส่วนปลายก้านครีบ ทำให้มีการพัฒนาของครีบทุกครีบอย่างสมบูรณ์ โดยครีบลึงมีก้านครีบ 8 ก้าน ครีบหางมีก้านครีบ 15 ก้าน ครีบก้นมีก้านครีบ 11 ก้าน เกิดจุดสีหนาแน่นมากขึ้นบริเวณส่วนท้องและแนวเส้นข้างลำตัว มีลักษณะทั่วไปเหมือนปลาที่โตเต็มวัย



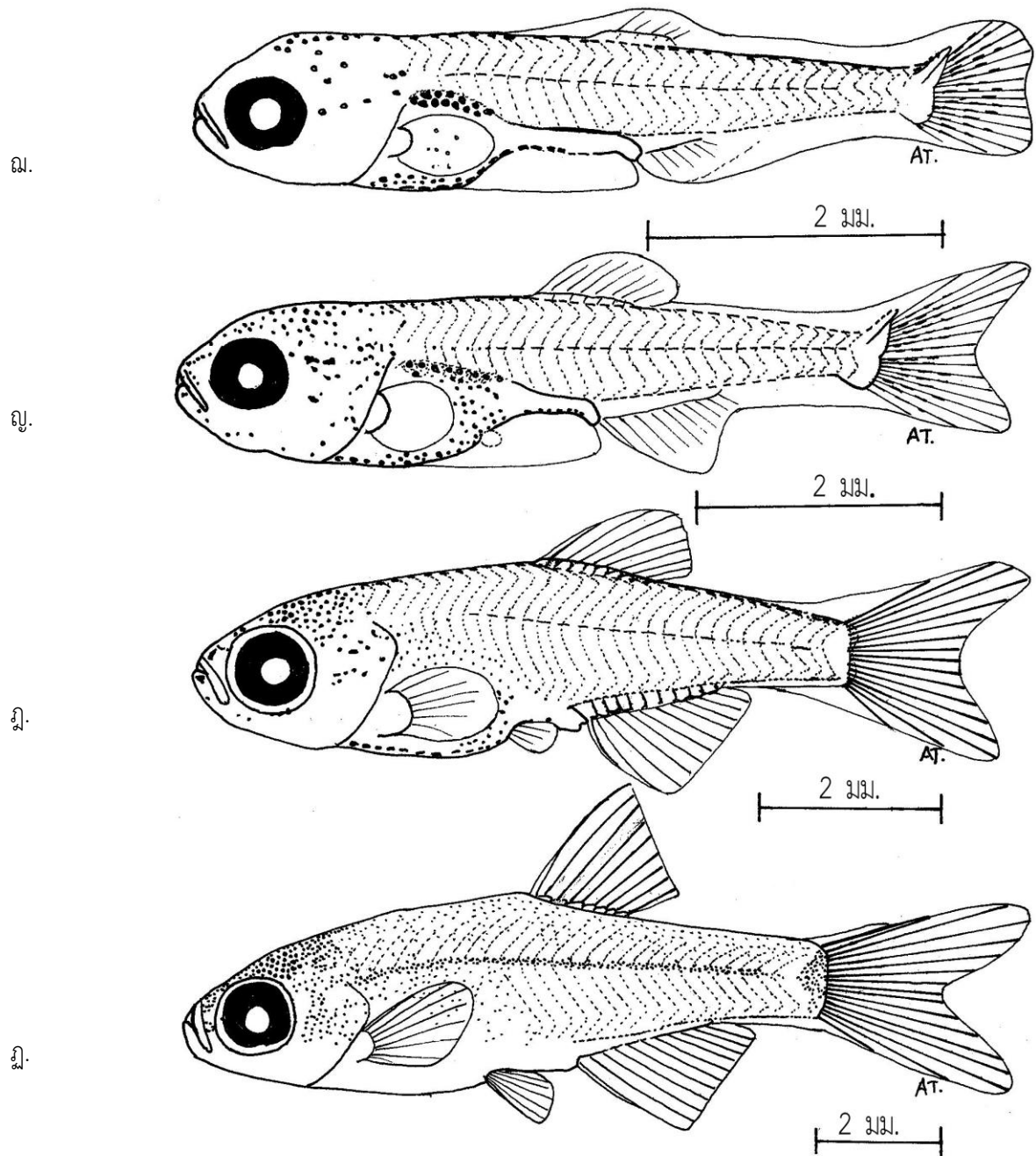
ภาพที่ 3 พัฒนาการของลูกปลาชีวาเขียววัยอ่อน

- ก. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 6 ชั่วโมง ความยาว 2.11 มิลลิเมตร
- ข. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 1 วัน ความยาว 2.36 มิลลิเมตร
- ค. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 2 วัน ความยาว 3.05 มิลลิเมตร
- ง. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 5 วัน ความยาว 3.22 มิลลิเมตร



ภาพที่ 3 พัฒนาการของลูกปลาชีวาตาเขียววัยอ่อน (ต่อ)

- จ. ลูกปลาชีวาตาเขียว อายุ 7 วัน ความยาว 3.78 มิลลิเมตร
- ฉ. ลูกปลาชีวาตาเขียว อายุ 12 วัน ความยาว 4.06 มิลลิเมตร
- ช. ลูกปลาชีวาตาเขียว อายุ 15 วัน ความยาว 4.54 มิลลิเมตร
- ซ. ลูกปลาชีวาตาเขียว อายุ 19 วัน ความยาว 5.59 มิลลิเมตร



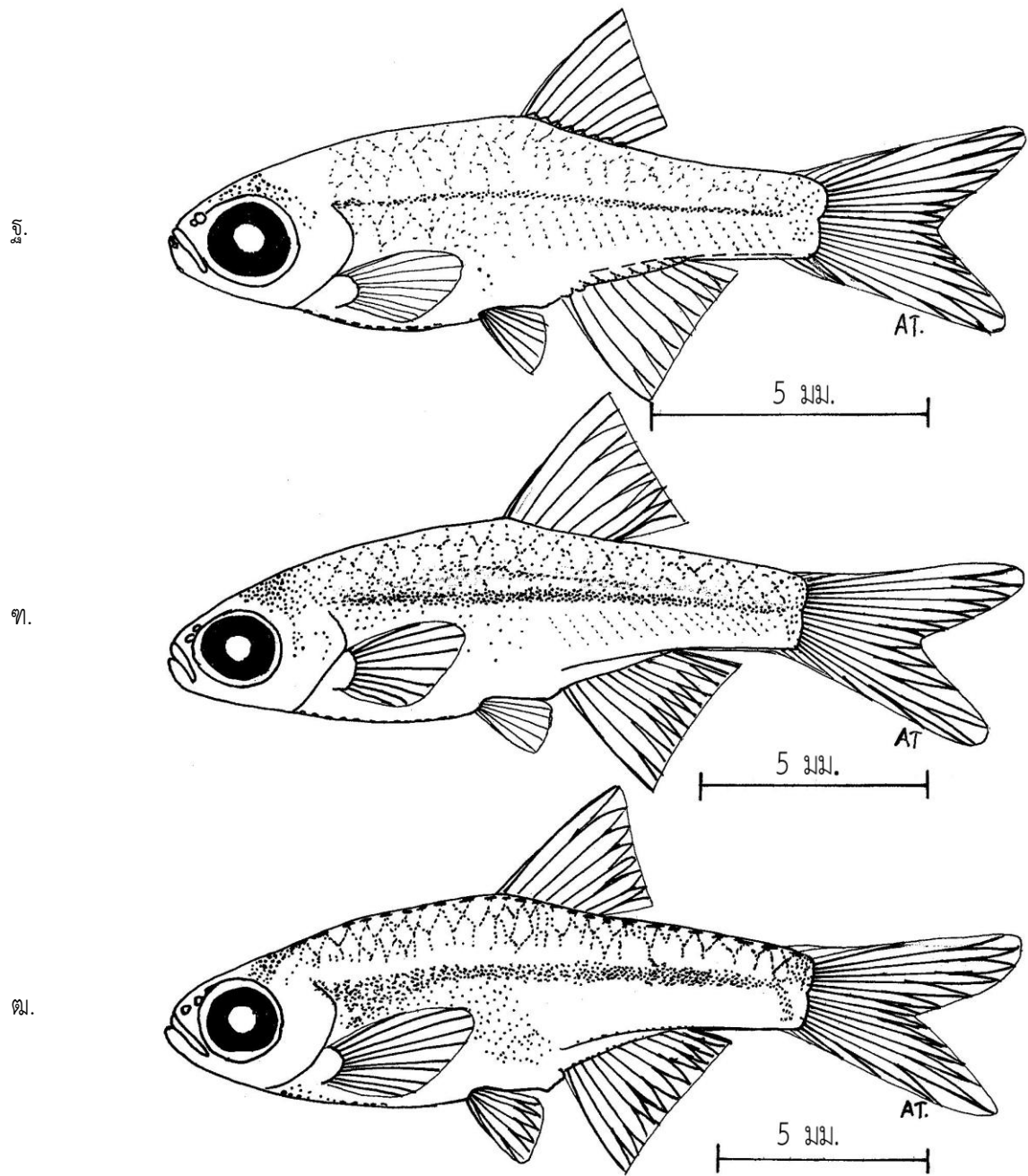
ภาพที่ 3 พัฒนาการของลูกปลาชีวาเขียววัยอ่อน (ต่อ)

ฅ. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 23 วัน ความยาว 5.71 มิลลิเมตร

ญ. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 27 วัน ความยาว 7.02 มิลลิเมตร

ฎ. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 31 วัน ความยาว 9.12 มิลลิเมตร

ฏ. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 35 วัน ความยาว 13.33 มิลลิเมตร



ภาพที่ 3 พัฒนาการของลูกปลาชีวาเขียววัยอ่อน (ต่อ)

รฐ. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 40 วัน ความยาว 15.53 มิลลิเมตร

จท. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 50 วัน ความยาว 18.78 มิลลิเมตร

ตผ. ลูกปลาชีวาเขียว อายุ 60 วัน ความยาว 20.49 มิลลิเมตร

4. คุณสมบัติน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์และฟักไข่ปลาชีวาเขียว

อุณหภูมิมีค่าระหว่าง 25.0-28.0 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ระหว่าง 6.6-7.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 7.32-7.95 ค่าความเป็นด่างอยู่ระหว่าง 85-105 มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3 ค่าความกระด้างอยู่ระหว่าง 94-105 มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3 และค่าแอมโมเนียรวม 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4, 5)

ตารางที่ 4 คุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน ในระยะเวลา 2 เดือน

คุณสมบัติของน้ำ	อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ (ตัว)		
	1:1	1:2	1:3
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	25.0-28.0	25.0-28.0	25.0-28.0
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	6.7-7.5	6.6-7.8	6.7-7.8
ความเป็นกรดเป็นด่าง	7.39-7.94	7.32-7.92	7.36-7.95
ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3)	85-105	85-100	86-100
ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3)	95-102	95-100	94-105
แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 5 คุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการฟักไข่ปลาชีวาเขียว ในระยะเวลา 2 เดือน

คุณสมบัติของน้ำ	ค่าที่วัดได้
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	25.0-28.0
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	6.8-7.5
ความเป็นกรดเป็นด่าง	7.32-7.95
ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3)	85-102
ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3)	95-100
แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.00

5. ต้นทุนการผลิต

การวิเคราะห์ต้นทุนการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน คือ อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1, 1:2 และ 1:3 ตัว ในระยะเวลา 2 เดือน มีต้นทุนการผลิตทั้งหมดเท่ากับ 316.31, 342.96 และ 366.00 บาทต่อตัว ตามลำดับ ซึ่งสามารถแยกออกเป็นต้นทุนผันแปรและต้นทุนคงที่ โดยต้นทุนส่วนใหญ่เป็นต้นทุนผันแปร ซึ่งมีค่าเท่ากับ 254.99, 281.64 และ 304.68 บาทต่อตัว ตามลำดับ หรือคิดเป็น

80.61, 82.12 และ 83.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต้นทุนคงที่ของทุกชุดการทดลองมีค่าเท่ากันคือ 61.32 บาท ต่อตัว คิดเป็น 19.39, 17.88 และ 16.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต้นทุนการผลิตต่อตัวเท่ากับ 8.79, 8.79 และ 11.09 บาทต่อตัว ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ต้นทุนการผลิตการเพาะพันธุ์ปลาชเวตาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน ในระยะเวลา 60 วัน (ระยะเวลาตั้งแต่ลูกปลาฟักออกจากไข่)

ต้นทุนการผลิต (บาทต่อตัว)	อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ (ตัว)					
	1:1		1:2		1:3	
ต้นทุนผันแปร (บาทต่อตัว)	บาท	เปอร์เซ็นต์	บาท	เปอร์เซ็นต์	บาท	เปอร์เซ็นต์
- ค่าพันธุ์ปลา	40.00	15.69	60.00	21.30	80.00	26.26
- ค่าอาหารปลา (ไรแดง)	13.20	5.18	19.80	7.03	22.80	7.48
- ค่าไฟฟ้า	7.45	2.92	7.45	2.65	7.45	2.45
- ค่าแรงงาน	187.50	73.53	187.50	66.57	187.50	61.54
- ค่าสารเคมีวิเคราะห์น้ำ	6.35	2.49	6.35	2.25	6.35	2.08
- ค่าเสียโอกาสในการลงทุน	0.49	0.19	0.54	0.19	0.58	0.19
รวมต้นทุนผันแปร	254.99	80.61	281.64	82.12	304.68	83.25
ต้นทุนคงที่ (บาทต่อตัว)						
- ค่าเสื่อมตู้กระจก ขนาด 40x40x40 เซนติเมตร	11.40	18.59	11.40	18.59	11.40	18.59
- ค่าเสื่อมตู้กระจก ขนาด 45x90x45 เซนติเมตร	1.80	2.94	1.80	2.94	1.80	2.94
- ค่าเสื่อมระบบน้ำหมุนเวียน	13.80	22.51	13.80	22.51	13.80	22.51
- ค่าเสื่อมเครื่องสูบน้ำแบบจุ่ม	11.40	18.59	11.40	18.59	11.40	18.59
- ค่าเสื่อมเครื่องเพิ่มอากาศ	5.40	8.81	5.40	8.81	5.40	8.81
- ค่าเสื่อมอุปกรณ์อื่น ๆ	17.40	28.38	17.40	28.38	17.40	28.38
- ค่าเสียโอกาสในการลงทุน	0.12	0.19	0.12	0.19	0.12	0.19
รวมต้นทุนคงที่	61.32	19.39	61.32	17.88	61.32	16.75
รวมต้นทุนการผลิตทั้งหมด	316.31	100.00	342.96	100.00	366.00	100.00
จำนวนลูกปลาที่ได้ (ตัวต่อตัว)	36.00		39.00		33.00	
ต้นทุนการผลิต (บาทต่อตัว)	8.79		8.79		11.09	

หมายเหตุ - ค่าพ่อแม่พันธุ์ปลา ราคาตัวละ 20 บาท
- ค่าอาหารปลา (ไรแดง) กิโลกรัมละ 50 บาท

- อัตราค่าแรงขั้นต่ำวันละ 300 บาทต่อวัน ทำงานวันละ 1 ชั่วโมง ชั่วโมงละ 37.5 บาท ต่อ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 60 วัน
- ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน คำนวณจากอัตราดอกเบี้ยเงินฝากประจำ 3 เดือนของธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร ประจำเดือนกรกฎาคม 2557 ในอัตรา ร้อยละ 1.15 ต่อปี
- ตู้กระจกขนาด 40×40×40 เซนติเมตร พร้อมขาตั้ง ราคา 700 บาทต่อตู้ อายุการใช้งาน 10 ปี ค่าเสื่อมราคา 0.19 บาทต่อวัน
- ตู้กระจกขนาด 45×90×45 เซนติเมตร ราคา 1,500 บาทต่อตู้ อายุการใช้งาน 10 ปี ใช้กับตู้ทดลอง 12 ตู้ ค่าเสื่อมราคา 0.03 บาทต่อวัน
- ระบบน้ำหมุนเวียน ประกอบด้วย บ่อพักน้ำ บ่อกรองน้ำ วัสดุกรองน้ำ แท่งค้ำน้ำ และท่อส่งน้ำ ราคา 15,000 บาท อายุการใช้งาน 15 ปี ใช้กับตู้ทดลอง 12 ตู้ ค่าเสื่อมราคา 0.23 บาทต่อตู้ต่อวัน
- เครื่องสูบน้ำแบบจุ่ม ราคา 2,500 บาท อายุการใช้งาน 3 ปี ใช้กับตู้ทดลอง 12 ตู้ ค่าเสื่อมราคา 0.19 บาทต่อตู้ต่อวัน
- เครื่องเพิ่มอากาศ ราคา 1,200 บาท อายุการใช้งาน 3 ปี ใช้กับตู้ทดลอง 12 ตู้ ค่าเสื่อมราคา 0.09 บาทต่อตู้ต่อวัน
- อุปกรณ์อื่น ๆ ราคา 1,250 บาท อายุการใช้งาน 1 ปี ใช้กับตู้ทดลอง 12 ตู้ ค่าเสื่อมราคา 0.29 บาทต่อตู้ต่อวัน

สรุปและวิจารณ์ผล

ปลาชีวาตาเขียวที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ รวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งเป็นลำธารที่ไหลมาจากน้ำตกในพื้นที่ อำเภอบึงสามพัน จังหวัดพิจิตร จำนวน 1,000 ตัว สามารถเลี้ยงให้สมบูรณ์เพศได้ในที่กักขังโดยใช้ไรแดงเป็นอาหาร ผลการทดลองเพาะพันธุ์ปลาชีวาตาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน พบว่า จำนวนครั้งในการวางไข่เฉลี่ย จำนวนไข่รวมเฉลี่ย อัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย อัตราการฟักเฉลี่ย อัตราการรอดตายเฉลี่ย และจำนวนลูกปลาเฉลี่ยของทุกชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องมาจากสาเหตุดังนี้

พฤติกรรมการผสมพันธุ์ของปลาชีวาตาเขียว พบว่าปลาเพศผู้มีการต่อสู้แย่งชิงเพศเมียตัวที่ชนะเท่านั้นที่ได้ผสมพันธุ์กับตัวเมีย โดยมีการจับคู่แยกออกจากฝูงเพื่อผสมพันธุ์วางไข่ สอดคล้องกับพฤติกรรมการผสมพันธุ์วางไข่ของปลาชีวาตาเขียวขนาดเล็กที่ปลาเพศผู้มีการต่อสู้เพื่อแย่งชิงเพศเมียและตัวที่ชนะได้ผสมพันธุ์กับเพศเมีย (สุชาติ และอำไพพรรณ, 2551) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการรายงานข้อมูลชนิดพันธุ์ปลาชีวาตาเขียว *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999 (Seriouslyfish.com, 2016) ปลา *Microdevario nanus* Kottelat & Witte, 1999 (Tomas, 2014) ที่มีการจับคู่ผสมพันธุ์วางไข่ และข้อมูลจากการสัมภาษณ์ผู้รวบรวมปลาชีวาตาเขียวจากธรรมชาติที่พบว่า มักจับปลาที่แยกออกจากฝูงได้เป็นคู่ในบริเวณพรรณไม้น้ำ ซึ่งพฤติกรรมการผสมพันธุ์ดังกล่าวสามารถป้องกันปลาตัวอื่นกินไข่ได้

พฤติกรรมการวางไข่ของปลาชีวาตาเขียวซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Cyprinidae มีการพัฒนาของไข่ไม่พร้อมกัน (asynchronous oocyte development) โดยไข่มีการพัฒนาหลายระยะ และมีขนาดต่าง ๆ กันมากมาย

จัดเป็น multiple spawner ที่สามารถวางไข่ได้หลายครั้งต่อปี ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าปลาเหล่านี้มีการสร้างไข่ทดแทนที่กันตลอดเวลา (วีรพงศ์, 2536) สอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่า ปลาชีวาตาเขียวมีไข่เป็นประเภทจมไม่ติดกับวัสดุ มีรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.70-0.80 มิลลิเมตร มีการวางไข่เฉลี่ย 4 ครั้ง ในระยะเวลา 2 เดือน ซึ่งมีระยะเวลาระหว่างการผสมพันธุ์วางไข่แต่ละครั้งห่างกันประมาณ 10-25 วัน (ตารางผนวกที่ 1-12) ทำให้ปลาเพศผู้ทุกตัวมีเวลาในการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ให้มีความสมบูรณ์พร้อมผสมพันธุ์กับปลาเพศเมีย นอกจากนี้จำนวนไข่ที่แม่ปลาวางไข่ในแต่ละครั้งมีจำนวนไม่มาก โดยจากการทดลองในครั้งนี้พบว่ามีจำนวน 16-68 ฟอง ซึ่งแตกต่างจากปลาชีวาแม่แดงที่มีการวางไข่เฉลี่ยครั้งละ 141-158 ฟอง (นพรี, 2551) และ ปลาชีวาหางกรรไกรที่สามารถวางไข่ได้ประมาณ 200-300 ฟอง (กำชัย และวิทยา, 2545) จึงไม่มีความจำเป็นที่ต้องมีเพศผู้มากกว่าเพศเมีย

สภาพแวดล้อมของทุกชุดการทดลองที่ไม่แตกต่างกันเนื่องจากการใช้ระบบน้ำหมุนเวียนผ่านระบบกรองชุดเดียวกัน และมีกระชังขังพ่อแม่พันธุ์เพื่อป้องกันการกินไข่ตัวเอง ดังนั้นจำนวนเพศผู้ที่เพิ่มขึ้นจึงไม่มีผลต่อจำนวนครั้งในการวางไข่ จำนวนไข่รวม อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลารวมเพิ่มขึ้น แต่ส่งผลกระทบให้จำนวนไข่ที่ได้มีจำนวนลดลงหากไม่มีอุปกรณ์ป้องกันการกินไข่เนื่องจากปลาชีวาตาเขียว มีพฤติกรรมการกินไข่และลูกของตัวเอง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานข้อมูลชนิดพันธุ์ปลา *Microdevario nanus* Kottelat & Witte, 1999 (Seriouslyfish.com, 2016) และวิธีการเพาะพันธุ์ปลาในวงศ์ Cyprinidae (Lambert, 2001) ดังนั้นในการเพาะพันธุ์ปลาชีวาตาเขียว จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการจัดการเพื่อป้องกันไม่ให้พ่อแม่พันธุ์กินไข่และลูกปลา ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการเพาะเลี้ยงปลาชีวาแม่แดงเพื่อการค้า (นพรี, 2551)

พัฒนาการของคัพภะปลาชีวาตาเขียว ไข่ปลาชีวาตาเขียวเป็นประเภทไข่จมไม่ติดกับวัสดุ มีรูปร่างกลม สีขาวใส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.70-0.80 มิลลิเมตร สอดคล้องกับลักษณะไข่ของปลาในวงศ์ย่อย Danioninae (Lambert, 2001) หลังจากไข่ปฏิสนธิแล้ว มีพัฒนาการคัพภะสรุปดังนี้ ระยะ Cleavage ใช้เวลา 2 ชั่วโมง 5 นาที ระยะ Blastula ใช้เวลา 2 ชั่วโมง 45 นาที ระยะ Gastrula ใช้เวลา 3 ชั่วโมง 55 นาที ระยะ Somite ใช้เวลา 5 ชั่วโมง 15 นาที ระยะ Optic bud ใช้เวลา 6 ชั่วโมง 30 นาที ระยะ Heart formation ใช้เวลา 8 ชั่วโมง 25 นาทีและเริ่มฟักออกเป็นตัว 20 ชั่วโมง 9 นาที ที่อุณหภูมิ 25.0-28.0 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับระยะเวลาการฟักไข่ของปลาชีวาข้างขวานเล็ก ที่เริ่มฟักออกเป็นตัว 19 ชั่วโมง 29 นาที ที่อุณหภูมิ 28.0-29.0 องศาเซลเซียส (สุชาติ และอำไพพรรณ, 2551)

พัฒนาการของลูกปลาชีวาตาเขียววัยอ่อน มีการพัฒนาอวัยวะต่าง ๆ จนมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัยเมื่ออายุ 60 วัน มีความยาว 20.49 มิลลิเมตร โดยในระยะ 3 วันแรกลูกปลาเกาะนิ่งติดกับขอบตู้ทดลอง มีการเคลื่อนไหวบ้างเป็นครั้งคราว เริ่มว่ายน้ำได้เมื่ออายุ 4 วัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานข้อมูลชนิดพันธุ์ปลา *Microdevario gatesi* Herre, 1939 (Seriouslyfish.com, 2016) ให้อาหารสำรองยุบหมดและเริ่มกินอาหารได้ เมื่ออายุ 5 วัน มีความยาว 3.22 มิลลิเมตร มีความกว้างของปาก 0.35 มิลลิเมตร อาหารที่ลูกปลาชีวาตาเขียวระยะนี้สามารถกินได้ คือ พารามีเซียม มีขนาดประมาณ 0.05-0.35 มิลลิเมตร (ประภาส, 2553) โรติเฟอร์น้ำจืด *Brachionus calyciflorus* Pallas มีขนาดประมาณ 0.13-0.21 มิลลิเมตร (ศุจิภรณ์, 2556) หรือตัวอ่อนไรแดงที่ฟักออกจากถุงไข่ใหม่ ๆ มีขนาด 0.22-0.35 มิลลิเมตร (ภาณุ และคณะ, 2549) ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าปลาลูกปลา

คุณภาพน้ำในตู้ทดลอง พบว่ามีความเหมาะสมต่อการเพาะฟัก (ตารางที่ 4 และ 5) ซึ่งค่าดังกล่าวอยู่ในช่วงที่สัตว์น้ำเจริญเติบโตได้ (ไมตรี และจารุวรรณ, 2528) โดยไม่เป็นอันตรายต่อพัฒนาการของคัพภะและตัวอ่อนของปลาชีวาเขียว

ต้นทุนการผลิต พบว่า การเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวโดยใช้อัตราส่วนเพศที่ต่างกัน มีต้นทุนการผลิตตั้งแต่ลูกปลาเริ่มฟักจนลูกปลามีอายุ 60 วัน ขนาดยาวประมาณ 20.49 มิลลิเมตร เท่ากับ 8.79, 8.79 และ 11.09 บาทต่อตัว ตามลำดับ ต้นทุนการผลิตที่สูงส่วนใหญ่มาจากต้นทุนผันแปร คิดเป็น 80.61, 82.12 และ 83.25 เปอร์เซ็นต์ ของต้นทุนทั้งหมด โดยมีค่าแรงงานเป็นต้นทุนหลัก คิดเป็น 73.53, 66.57 และ 61.54 เปอร์เซ็นต์ ของต้นทุนผันแปรทั้งหมด รองลงมาคือค่าพ่อแม่พันธุ์ปลา คิดเป็น 15.69, 21.30 และ 26.26 เปอร์เซ็นต์ ของต้นทุนผันแปรทั้งหมด โดยจำนวนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่เพิ่มขึ้นและจำนวนลูกปลาที่ได้น้อยในชุดการทดลองที่ 3 ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 และ 2 รวมทั้งปลาชีวาเขียวเป็นปลาขนาดเล็ก มีไข่น้อย ในระยะเวลา 2 เดือน แม่พันธุ์ปลา 1 ตัว วางไข่เฉลี่ย 4 ครั้ง จำนวนไขรวมเฉลี่ย 175 ฟอง ได้ผลผลิตลูกปลาเฉลี่ย 36 ตัว ทำให้มีต้นทุนการผลิตต่อตัวที่สูง นอกจากนี้การออกแบบชุดการทดลองที่มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อรวบรวมข้อมูลจากการเพาะพันธุ์ ได้แก่ จำนวนครั้งในการวางไข่ จำนวนไขรวม อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลา ของแต่ละชุดการทดลอง ซึ่งมีความจำเป็นต้องใช้วิธีการทดลองและวัสดุอุปกรณ์ที่เหมาะสมทำให้ต้นทุนการผลิตต่อตัวสูงขึ้นด้วย

ดังนั้นแนวทางในการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวควรใช้อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว จึงมีความเหมาะสมที่สุด เพื่อลดการสูญเสียไข่และลูกปลาจากการกินของพ่อแม่พันธุ์ รวมทั้งลดต้นทุนค่าพ่อแม่พันธุ์ปลา สอดคล้องกับวิธีการเพาะพันธุ์ปลาในสกุล *Danios* และ *Devarios* ที่ใช้อัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 หรือ 1:2 ตัว (Pete, 2016) ซึ่งสามารถพัฒนาการเพาะพันธุ์ได้ในเชิงพาณิชย์ โดยนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาระบบการเพาะพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ ได้ผลผลิตมากขึ้นและต้นทุนการผลิตลดลง ผลผลิตปลาชีวาเขียวจากการเพาะเลี้ยงจึงสามารถทดแทนปลาที่รวบรวมจากธรรมชาติได้ ซึ่งเป็นการอนุรักษ์อีกแนวทางหนึ่งด้วย นอกจากนี้การเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียวเพื่อปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อการอนุรักษ์มีความจำเป็นอย่างยิ่ง โดยข้อมูลจากการสัมภาษณ์ผู้รวบรวมปลาพบว่า ในปัจจุบันปลาชีวาเขียวในแหล่งน้ำธรรมชาติมีจำนวนลดลงอย่างมาก หากไม่มีการผลิตเพื่อปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ หรือไม่มีการควบคุมการจับจากธรรมชาติอาจนำมาซึ่งการสูญพันธุ์ได้ในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการออกแบบชุดการทดลองในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถเก็บรวบรวมข้อมูลและสังเกตพฤติกรรมของปลาได้ดี ทำให้ได้ผลผลิตน้อยและมีต้นทุนสูง ดังนั้นจึงควรพัฒนาระบบการเพาะพันธุ์ให้ได้ในเชิงพาณิชย์ และเพาะพันธุ์เพื่อปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อการอนุรักษ์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.อภิชาติ เต็มวิชชากร และคุณสิริวรรณ สุขศรี ที่ให้ความช่วยเหลือในการศึกษาพัฒนาการของลูกปลาชีวิตาเขียววัยอ่อน คุณสุวรรณี ขวัญเมือง ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสตูล และคุณกิตติภาพ จันทระประวัติ ที่ให้ความช่วยเหลือระหว่างทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- กำชัย ลาวัณยวุฒิ และ วิทยา หวังเจริญพร. 2545. การศึกษาเบื้องต้นทางชีววิทยาบางประการและการทดลองเพาะขยายพันธุ์ปลาชีวทางกรไร. เอกสารวิชาการฉบับที่ 209/2545. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด, กรมประมง. 35 หน้า
- จิรวัดน์ ผลเพิ่มพูน. 2550. การเพาะพันธุ์ปลาชีวทางกรไร. http://aquarium-thailand.blogspot.com/2007/07/blog-post_3007.html.
- ไทยควอริยมเซ็นเตอร์. 2559. ราคาสินค้าบริการ. <http://thaiaquariumcenter.tarad.com/product-th-665850-3258034-ปลาชีวเขียว.html#>.
- นนทรี ปานพรหมมินทร์. 2551. การเพาะเลี้ยงปลาชีวแม่แดงเพื่อการค้า. รายงานประจำปี 2551. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพันธุ์ไม้น้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 22 หน้า.
- ประภาส โฉลกพันธุ์รัตน์. 2553. พารามีเซียม. ภาควิชาประมง, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. <http://home.kku.ac.th/pracha/Paramecium.htm>
- ภานุ เทวรัตน์มณีกุล, สำรวัย เสรีจกิจ และ ทศนีย์ วัชรกรโยธิน. 2549. การเพาะเลี้ยงไรแดง. ส่วนเผยแพร่การประมง, สำนักพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการประมง, กรมประมง. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 28 หน้า.
- ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ. 2528. คุณสมบัติน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับงานวิจัยทางการประมง. ฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำ, สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง. 115 หน้า.
- วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. การเพาะพันธุ์ปลา. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพมหานคร. 174 หน้า.
- ศุภิภรณ์ อธิบาย. 2556. ผลของอุณหภูมิต่อการสืบพันธุ์ อายุขัย และขนาดของ *Brachionus calyciflorus* Pallas. <http://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filename=77P-FISH-0211.pdf&id=909&keeptrack=5>.
- สมศักดิ์ เพียบพร้อม. 2530. หลักและวิธีการจัดการธุรกิจฟาร์ม. โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์. กรุงเทพฯ. 240 หน้า.
- สุชาติ ไกรสุรสีห์ และ อำไพพรรณ ไกรสุรสีห์. 2551. การเพาะพันธุ์ปลาชีวข้างขวานเล็กโดยใช้วัสดุวางไข่ที่ต่างกัน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 35/2551. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดตรัง, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 38 หน้า.
- สุภาพร สุกสีเหลือง. 2542. มีนวิทยา. สำนักพิมพ์ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ. กรุงเทพมหานคร. 568 หน้า.
- อภิชาติ เต็มวิชชากร. 2546. ลูกปลาน้ำจืดวัยอ่อน. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรประมงน้ำจืด, กรมประมง. 130 หน้า.

- Capuli, E. E. 2007. Occurrence Record of *Microdevario kubotai*. <http://filaman.ifm-geomar.de/museum/SpecOccurrences.php?catnum2=2365329>.
- Capuli, E. E. 2008. Morphology Data of *Microdevario kubotai*. <http://filaman.ifm-geomar.de/physiology/MorphDataSummary.php?genusname=Microdevario&speciesname=kubotai&autoctr=11377>
- Clarke, M. 2010. Kubota's microrasbora, *Microdevario kubotai*. <http://www.practicalfishkeeping.co.uk/content.php?sid=3044>. July 20, 2010.
- Lambert, D. 2001. A practical guide to breeding your freshwater fish. Interpet Publishing. England. 77 pp.
- Pete, C. 2016. Breeding Danios and Devarios. <http://www.danios.info/articles/breeding.aspx>. March 14, 2016.
- Seriouslyfish.com. 2016. *Microdevario gatesi* Herre, 1939. Species Profile. <http://www.seriouslyfish.com/species/microdevario-kubotai>. March 3, 2016.
- . *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999. Species Profile. <http://www.seriouslyfish.com/species/microdevario-kubotai>. March 1, 2016.
- . *Microdevario nanus* Kottelat & Witte, 1999. Species Profile. <http://www.seriouslyfish.com/species/microdevario-kubotai>. March 1, 2016.
- Shirota, A. 1970. Studies on the mouth size of fish larvae, Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 36(4): 353-368.
- Tomas, L. 2014. Spawning *Microdevario nanus*. <http://www.seriouslyfish.com/forums/freshwater-and-brackish-water-fishes/spawning-microdevario-nanus/>. March 13, 2016.
- Vidthayanon, C. 2005. Thailand red data fish. Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning (ONEP). Thailand. 107 pp.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว (T1R1)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
2 ส.ค. 57	1	25	64.00	62.50	70.00	7
21 ส.ค. 57	2	56	71.43	70.00	50.00	14
9 ก.ย. 57	3	46	67.39	45.16	57.14	8
รวม	3	127	68.50	59.77	55.77	29

ตารางผนวกที่ 2 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว (T1R2)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
2 ส.ค. 57	1	46	60.87	53.57	53.33	8
16 ส.ค. 57	2	54	53.70	55.17	50.00	8
3 ก.ย. 57	3	40	67.50	51.85	57.14	8
15 ก.ย. 57	4	62	69.35	53.49	52.17	12
รวม	4	202	62.87	53.54	52.94	36

ตารางผนวกที่ 3 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว (T1R3)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
2 ส.ค. 57	1	25	68.00	64.71	63.64	7
17 ส.ค. 57	2	68	67.65	65.22	50.00	15
27 ส.ค. 57	3	56	69.64	53.85	57.14	12
9 ก.ย. 57	4	18	72.22	53.85	42.86	3
24 ก.ย. 57	5	44	63.64	53.57	53.33	8
รวม	5	211	67.77	58.74	53.57	45

ตารางผนวกที่ 4 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:1 ตัว (T1R4)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
4 ส.ค. 57	1	33	72.73	58.33	57.14	8
17 ส.ค. 57	2	54	57.41	54.84	52.94	9
7 ก.ย. 57	3	56	62.50	60.00	57.14	12
22 ก.ย. 57	4	25	64.00	56.25	55.56	5
รวม	4	168	63.10	57.55	55.74	34

ตารางผนวกที่ 5 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:2 ตัว (T2R1)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
12 ส.ค. 57	1	48	41.67	50.00	70.00	7
26 ส.ค. 57	2	49	69.39	55.88	57.89	11
5 ก.ย. 57	3	25	72.00	61.11	54.55	6
17 ก.ย. 57	4	52	63.46	57.58	52.63	10
26 ก.ย. 57	5	56	69.64	61.54	58.33	14
รวม	5	230	62.61	57.64	57.83	48

ตารางผนวกที่ 6 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:2 ตัว (T2R2)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
3 ส.ค. 57	1	52	65.38	52.94	72.22	13
14 ส.ค. 57	2	63	65.08	53.66	54.55	12
28 ส.ค. 57	3	28	64.29	55.56	50.00	5
21 ก.ย. 57	4	45	66.67	53.33	62.50	10
รวม	4	188	65.43	53.66	60.61	40

ตารางผนวกที่ 7 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:2 ตัว (T2R3)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
3 ส.ค. 57	1	25	68.00	52.94	55.56	5
14 ส.ค. 57	2	63	65.08	53.66	54.55	12
24 ส.ค. 57	3	55	65.45	52.78	57.89	11
15 ก.ย. 57	4	59	61.02	55.56	50.00	10
27 ก.ย. 57	5	41	65.85	51.85	57.14	8
รวม	5	243	64.61	53.50	54.76	46

ตารางผนวกที่ 8 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:2 ตัว (T2R4)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
2 ส.ค. 57	1	25	68.00	52.94	55.56	5
14 ส.ค. 57	2	65	67.69	50.00	63.64	14
7 ก.ย. 57	3	16	68.75	54.55	50.00	3
รวม	4	106	67.92	51.39	59.46	22

ตารางผนวกที่ 9 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จากการทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:3 ตัว (T3R1)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการรอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
10 ส.ค. 57	1	68	75.00	56.86	51.72	15
22 ส.ค. 57	2	56	62.50	60.00	57.14	12
1 ก.ย. 57	3	18	72.22	61.54	50.00	4
15 ก.ย. 57	4	46	69.57	50.00	62.50	10
26 ก.ย. 57	5	22	68.18	60.00	55.56	5
รวม	5	210	69.52	56.85	55.42	46

ตารางผนวกที่ 10 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จาก
การทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:3 ตัว (T3R2)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการ ปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการ รอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
8 ส.ค. 57	1	49	63.27	51.61	43.75	7
21 ส.ค. 57	2	25	64.00	56.25	55.56	5
15 ก.ย. 57	3	47	63.83	53.33	68.75	11
รวม	3	121	63.64	53.25	56.10	23

ตารางผนวกที่ 11 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จาก
การทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:3 ตัว (T3R3)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการ ปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการ รอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
3 ส.ค. 57	1	35	68.57	66.67	62.50	10
13 ส.ค. 57	2	56	55.36	54.84	58.82	10
27 ส.ค. 57	3	24	62.50	53.33	62.50	5
12 ก.ย. 57	4	49	59.18	55.17	56.25	9
24 ก.ย. 57	5	21	66.67	50.00	57.14	4
รวม	5	185	61.08	56.64	59.38	38

ตารางผนวกที่ 12 จำนวนไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และจำนวนลูกปลาที่ได้จาก
การทดลองอัตราส่วนเพศเมียต่อเพศผู้ 1:3 ตัว (T3R4)

วัน เดือน ปี	ครั้งที่	จำนวนไข่	อัตราการ ปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)	อัตราการ รอดตาย (%)	จำนวนลูกปลา (ตัว)
8 ส.ค. 57	1	36	61.11	54.55	58.33	7
19 ส.ค. 57	2	28	64.29	55.56	50.00	5
3 ก.ย. 57	3	30	66.67	55.00	63.64	7
16 ก.ย. 57	4	29	65.52	52.63	60.00	6
รวม	4	123	64.23	54.43	58.14	23



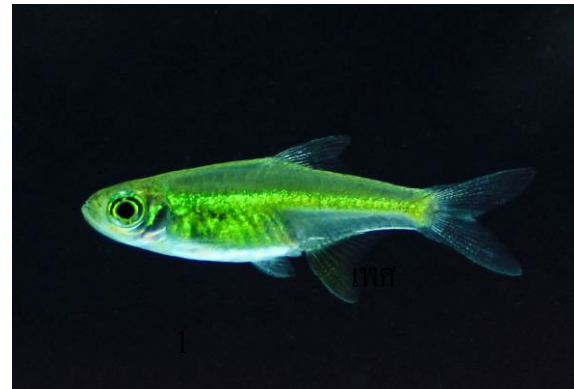
ภาพผนวกที่ 1 การรวบรวมปลาชีวาเขียวจากแหล่งน้ำธรรมชาติ



ภาพผนวกที่ 2 ลักษณะและขนาดพ่อแม่พันธุ์ปลาชีวาเขียว



เพศเมีย

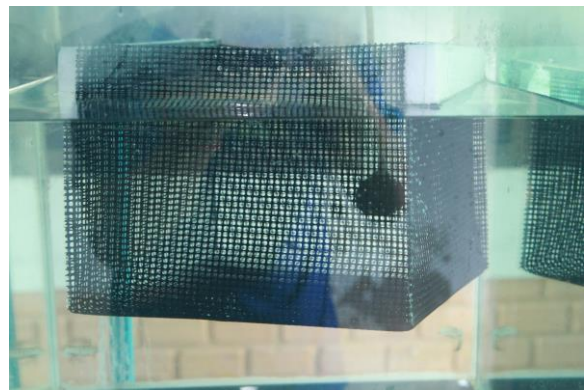
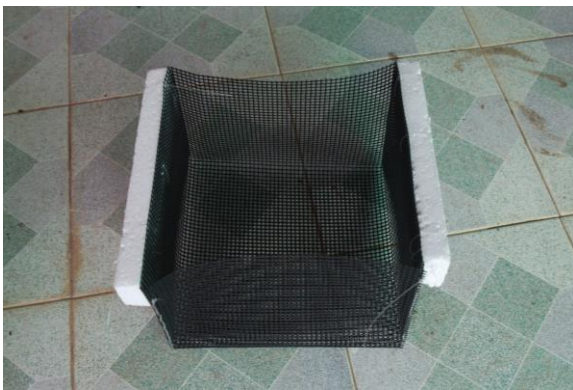


เพศผู้

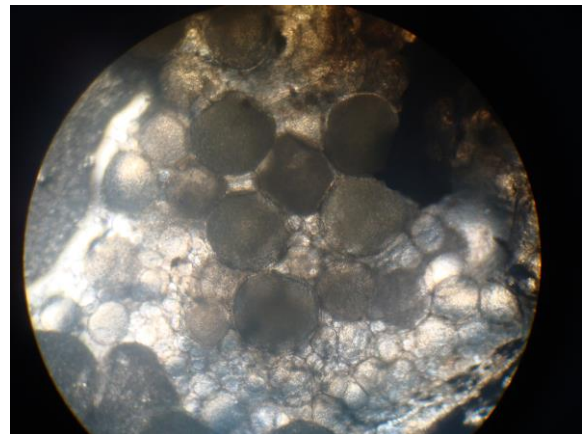
ภาพผนวกที่ 3 ลักษณะความแตกต่างระหว่างเพศของปลาชีวาเขียว



ภาพผนวกที่ 4 ตู้กระจกที่ใช้ในทดลองการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียว



ภาพผนวกที่ 5 อุปกรณ์ป้องกันปลาพ่อแม่พันธุ์กินไข่ตัวเองที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาชีวาเขียว



ภาพผนวกที่ 6 ลักษณะไข่ปลาชีวาเขียวมีการพัฒนาของไข่ไม่พร้อมกัน (asynchronous oocyte development)