



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการผลของการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียว, *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927 ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่ผลิตขึ้นเพื่อทดแทนอาหารมีชีวิต: การยอมรับอาหารและการสืบพันธุ์

The effects of feeding mandarin fish, *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927 broodstocks with artificial diets as a replacement for live feeds with emphasis on the acceptability and its impacts on the reproductive capability

### ภายใต้แผนงานวิจัย

การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาแมนดาริน, *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927 เพื่อการอนุรักษ์ และการผลิตเชิงพาณิชย์

Development of Aquaculture Technology of Mandarinfish, *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927) for conservation and commercial production

นางสาวจรรุจน์ท์ ประทุมยศ

นางสาวสุพรรณณี ลีโทชวลิต

นางณิชา สิรินนท์ธนา

นางสาวศิริวรรณ ชูศรี

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล(งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557-2558

มหาวิทยาลัยบูรพา

## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการผลของการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดาริน, *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927 ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่ผลิตขึ้นเพื่อทดแทนอาหารมีชีวิต: การยอมรับอาหารและการสืบพันธุ์

The effects of feeding mandarin fish, *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927 broodstocks with artificial diets as a replacement for live feeds with emphasis on their acceptability and impacts on reproductive capability

### ภายใต้แผนงานวิจัย

การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาแมนดาริน, *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927 เพื่อการอนุรักษ์ และการผลิตเชิงพาณิชย์

Development of Aquaculture Technology of Mandarin fish, *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927) for conservation and commercial production

นางสาวจารุณันท์ ประทุมยศ

นางสาวสุพรรณณี ลีโทชวลิต

นางณิชา สิรินนท์ธนา

นางสาวศิริวรรณ ชูศรี

13 กันยายน พ.ศ. 2559

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557-2558 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ สัญญาเลขที่ ๑๖๕/๒๕๕๘ ซึ่งคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างมาก ณ โอกาสนี้ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะทำงานที่ร่วมใจกันดำเนินการวิจัยอย่างดีและขอขอบคุณบุคลากรของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือในการทำวิจัยจนทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้

## บทคัดย่อ

ในธรรมชาติปลาแมนดารินเขียว (*Synchiropus splendidus*) กินแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็กและขนาดใหญ่แต่แพลงก์ตอนสัตว์เหล่านี้เพาะเลี้ยงยากในที่กักขัง อาร์ทีเมียแต่ หาได้ง่าย เจริญเติบโตเร็ว ซึ่งเป็นอาหารทางเลือกในการเลี้ยงปลาแมนดารินเขียวแต่ขนาดและปริมาณอาร์ทีเมียที่ให้ปลาแมนดารินเขียวกินและปลาสามารถสืบพันธุ์ได้ต้องทำการศึกษา นอกจากนี้ การเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวด้วยอาหารเม็ดทดแทนการใช้อาหารมีชีวิตยังไม่มีรายงานการวิจัย ในการวิจัยนี้มีการทดลอง 2 การทดลอง ในการทดลองปีที่ 1 ศึกษาผลของขนาดและความหนาแน่นของอาร์ทีเมียต่อผลผลิตไข่ของปลาแมนดารินเขียว *Synchiropus splendidus*, Herre, 1927 (F1) ในการทดลองปีที่ 2 ศึกษาผลของการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวด้วยอาหารมีชีวิตและอาหารสำเร็จรูปต่อการสืบพันธุ์และผลผลิตไข่ของปลาแมนดารินเขียว (F1) นอกจากนี้ ยังทำการศึกษาพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ปลาแมนดารินเขียวระยะวัยรุ่นจนกระทั่งเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์

ในการทดลองปีที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ 4×3 การทดลองแบบสุ่มตลอด ชุดการทดลองประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง ชุดการทดลองที่ 2 ให้กินอาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มิลลิลิตร/ครั้ง ชุดการทดลองที่ 3 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ลิตร/ครั้ง และอาร์ทีเมียแรกฟัก 0.5 ตัว/มิลลิลิตร/ครั้ง ชุดการทดลองที่ 4 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1 ตัว/ลิตร/ครั้งและอาร์ทีเมียแรกฟักจำนวน 0.5ตัว/มิลลิลิตร/ครั้ง อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่เตรียมไว้ใช้ในการทดลองเลี้ยงด้วยสไปรูไลนาอบแห้งเป็นอาหารตลอดเวลา ก่อนที่จะนำไปอาร์ทีเมียไปใช้ทดลองทำการเสริมอาหารในอาร์ทีเมียด้วยแพลงก์ตอนพืชผสมกัน 2 ชนิดเป็นระยะเวลาประมาณ 1-3 ชม ระหว่างเตตราเซลมิส (*Tetraselmis gracilis*) และไอโซโคลซิส (*Isochrysis galbana*) หรือระหว่างเตตราเซลมิส (*T. gracilis*) และนาโนโครลอปซิส (*Nanochloropsis oculata*) เริ่มต้นการทดลองเมื่อปลามีอายุ 14 เดือน ทดลองในตู้กระจกขนาด 45 × 120 × 50 เซนติเมตรบรรจุน้ำ 270 ลิตร ตู้ทดลองแบ่ง 2 ส่วนคือ ส่วนเลี้ยงปลา (180 ลิตร) และส่วนเก็บไข่ ( 90 ลิตร) ให้อาหารปลาแมนดารินเขียว 2 ครั้ง/วัน หลังจากทดลองเป็นระยะเวลา 9 เดือน (ปลาแมนดารินเขียวอายุ 2 ปี) พบว่าในทุกชุดการทดลองปลาเพศเดียวกันมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) แต่ปลาเพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจำนวน 1 คู่ ที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง เริ่มผสมพันธุ์และให้ผลผลิตไข่เมื่ออายุ 1 ปี 7 เดือน (ก่อนช่วงวัดขนาดปลาสิ้นสุดการทดลอง 3 เดือน) จี๊ดคาดว่าปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ที่เลี้ยงในที่กักขังเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์มีน้ำหนัก 3.70 กรัม ความยาวลำตัว 5.54 เซนติเมตรและเพศเมียมีน้ำหนัก 3 กรัม ความยาวลำตัว 5.39 เซนติเมตร ปลาแมนดารินเขียวคู่นี้ผสมพันธุ์ออกไข่ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงกันยายน จำนวน 10 ครั้ง ไข่ปลามีปริมาณ 48 – 253 ฟอง (ขนาดเฉลี่ย  $0.78 \pm 0.02$  มม) จำนวนไข่ที่ได้รับการผสมพัฒนาและเป็นตัวอ่อนเพิ่มขึ้นตามจำนวนครั้งการออกไข่แสดงว่าการเสริมสารอาหารในอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยด้วยแพลงก์ตอนพืชผสมกันและให้ปลาแมนดารินเขียว (F1) อายุ 14 เดือน กินอัตราอย่างน้อย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง จำนวน 2 ครั้งต่อวันเป็นระยะเวลานาน 9 เดือน มีสารอาหารพอเพียงในการเลี้ยงปลา *S. splendidus* ในที่กักขังและปลาสามารถสืบพันธุ์ได้ ลูกปลาแมนดารินเขียวแรกเกิดเป็นระยะ pro-larvae ซึ่งมีลำตัวใสและมีถุงไข่แดงขนาดใหญ่ปากและสีของตายังไม่พัฒนาและมีระบบทางเดินอาหารเป็นเส้นตรง จากผลการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในอาร์ทีเมียทดลองพบว่าอาร์ทีเมียแรกฟักมีโปรตีนและไขมันสูงกว่าอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยกินแพลงก์ตอนพืชผสม *T. gracilis* และ *N. oculata* มีโปรตีนสูงกว่าอาร์ทีเมียกิน *T. gracilis* และ *I. galbana* แต่อาร์ทีเมียเหล่านี้มีไขมันไม่แตกต่างกัน อาร์ทีเมียทดลองทั้งสองขนาดมี

กรดไขมันที่จำเป็นขนาดโซ่ยาว eicosapentaenoic acid 3% แต่ไม่มีกรดไขมัน docosahexaenoic acid อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมมี arachidonic acid 1%

ในการทดลองปีที่ 2 ชุดการทดลองประกอบด้วย ชุดทดลองที่ 1 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง (ชุดควบคุม) ชุดทดลองที่ 2 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ลิตร/ครั้ง ชุดทดลองที่ 3 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง ชุดทดลองที่ 4 ให้กินอาหารเม็ดชนิดจมน้ำ (5 - 10% ของน้ำหนักตัวเริ่มต้นทดลอง) การเตรียมอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยไว้ใช้ในการทดลองใช้วิธีการเดียวกับการทดลองปีที่ 1 แต่เพิ่มระยะเวลาในการเสริมสารอาหารด้วยแพลงก์ตอนพืชสองชนิดเป็นเวลาประมาณ 18 -24 ชั่วโมง เริ่มต้นการทดลองเมื่อปลาอายุ 15 เดือน ผลการทดลองพบว่าปลาแมนดารินเขียวเพศเมีย 1 ตัวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้งให้ผลผลิตไข่เมื่ออายุ 1 ปี 7 เดือน (19 เดือน) และปลาแมนดารินเขียว 2 ตัวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้งให้ผลผลิตไข่เมื่ออายุ 2 ปี (24 เดือน) และอายุ 2 ปี 5 เดือน ( 29 เดือน) ปลาแมนดารินเขียวกินอาร์ทีเมียทั้งสองระดับให้ผลผลิตไข่ใน 3 ครั้งแรกของการออกไปประมาณ 24- 46 ฟอง เมื่อปลามีขนาดและอายุเพิ่มขึ้น จำนวนไข่ปลาไม่คงที่แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (263 ฟอง) แต่ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปและกินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ลิตร/ครั้งไม่มีพฤติกรรมการออกไข่ นอกจากนี้ ในระหว่างการทดลองอากาศเปลี่ยนแปลงและอุณหภูมิลดลงกระทันหันในเดือนพฤศจิกายน 2558 และเดือนกุมภาพันธ์ 2559 ทำให้ปลาทดลองตายจำนวนมากโดยเฉพาะปลาเพศผู้ ปลาเพศเมียที่ออกไข่แล้วและเหลือตัวเดียวในตู้มีพฤติกรรมออกไข่ต่อไปแสดงว่าปลาแมนดารินเขียวเมื่อถึงวัยเจริญพันธุ์ปล่อยไข่ได้โดยไม่ต้องมีปลาเพศผู้กระตุ้นการออกไข่ จากการศึกษาพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียวด้วยเทคนิคเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าปลาแมนดารินเขียวอายุ 12 เดือนขึ้นไปมีการสร้างไข่ (oogenesis) และสเปิร์ม (spermatogenesis) โดย oocytes ที่พบมีหลายระยะจึงสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าปลาแมนดารินเขียวมีพฤติกรรมการผสมพันธุ์ออกไข่หลายครั้ง (multiple spawning) และปริมาณไข่ที่ปล่อยออกมาแต่ละครั้งมีจำนวนไม่คงที่

---

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

## Abstract

In the wild, green mandarinfish, *Syngniscopus splendidus* Herre, 1927, feed principally on a range of zooplankton, however, rearing zooplankton under captive conditions remains problematic. While *Artemia* are used intensively in aquaculture for rearing finfish, they have the benefit of being fast growing and readily available and therefore may serve as an alternative live feed for *S. splendidus*, however, the right size and density of *Artemia* to present to the fish needs to be determined. The replacement of live feeds with artificial diets, however, remains to be investigated. For the current study, two experiments were conducted. The first set out to determine what size and density of *Artemia* were appropriate for maintaining growth and led to successful spawning events. The second trial set out to compare feeding an artificial diet with adult *Artemia* presented at different ratios on the spawning of *S. splendidus*. Investigations were supported by histology to follow the development of the reproductive organs in juvenile (*i.e.* 6 months-old) fish through to maturity (*i.e.* 24 months-old).

For the first experiment, a 4x3 completely randomised design (CRD) was used to test various live *Artemia* diets presented to the F1 progeny of green mandarinfish reared under artificial conditions. The experimental treatments were: 1) live adult *Artemia* fed at 3 individuals (ind) L<sup>-1</sup>; 2) newly hatched (NH) *Artemia* fed at 0.5 ind. ml<sup>-1</sup>; 3) adult *Artemia* at 2 ind. L<sup>-1</sup> plus NH at 0.25 ind. ml<sup>-1</sup>; and, 4) adult *Artemia* at 1 ind. L<sup>-1</sup> plus NH at 0.25 ind. ml<sup>-1</sup>. The *Artemia* used in all treatments, were maintained on powdered *Spirulina* sp., prior to a 1-3 h enrichment with a mixture of live algae, *i.e.*, either *Tetraselmis gracilis* and *Isochrysis galbana* or *T. gracilis* and *Nanochloropsis oculata*. The 14 month-old *S. splendidus* used for the experimental trials, were raised in 45 x 120 x 50 cm glass tanks containing 270 L of 32-34 ppt seawater. The experimental tanks were separated into two zones, *i.e.* a rearing (180 L) and an egg collection zone (90 L). The fish were fed twice a day on their relevant diet and evaluated over a 9-month period. On termination of the trial, there were no significant differences ( $p \geq 0.05$ ) in the growth performances when same sex fish were compared between treatments; males, however, were always of a larger size. Only a single pair of *S. splendidus* fed on the adult *Artemia* given at 3 ind. L<sup>-1</sup> began to display breeding behaviour when they were aged 19 months-old (*i.e.* 3 months prior to the termination of the trial), which led to the assumption that the size and age at which *S. splendidus* reach maturity under aquaculture conditions is when males reach *ca.* 5.54 cm in total length (TL) and females reach *ca.* 5.39 cm TL. This pair of fish went on to successfully spawn ten times throughout June-September. The number of eggs laid within each batch ranged from 48–253; the average diameter of the eggs was 0.78±0.02 mm. Irrespective of the egg number within a batch, the number of fertilized eggs increased

in successive batches indicating that application of microalgae-enriched AA given at least 3 ind. L<sup>-1</sup>, when presented at least twice daily for 9 months, may provide sufficient nutrients to promote the reproduction of the green mandarin fish reared in captivity. After hatching, the pro-larvae were transparent and associated with a large yolk sac. At this stage, the pro-larvae had undeveloped eye pigment and lacked a mouth; the digestive system was seen as a simple, straight tube. Analysis of the diets found that newly hatched *Artemia* (NHA) contained higher levels of protein and lipid than AA; the protein levels of AA fed mixed *T. gracilis* and *N. oculata* were high but their lipid levels were similar to those fed *T. gracilis* and *I. galbana*. All *Artemia* contained ca. 3% eicosapentaenoic acid, but they lacked docosahexaenoic acid, while the AA fed mixed microalgae had ca. 1% arachidonic acid.

The experimental treatments used for the second experiment were: 1) live adult *Artemia* fed at 2 individuals (ind) L<sup>-1</sup>; 2) live adult *Artemia* fed at 3 individuals (ind) L<sup>-1</sup>; 3) live adult *Artemia* fed at 4 ind. L<sup>-1</sup>; and, 4) an artificial diet fed *ad libitum* (ca. 5-10% of the initial body weight). The techniques used to maintain and enrich the *Artemia* employed the same methods used in trial 1 except that the duration of enrichment was extended to 18-24 h (c.f. 1-3 h). Fish aged 15 months-old were used for the experimental trial. The study found that a single female green mandarin fish fed on adult *Artemia* at 3 ind. L<sup>-1</sup> began to spawn at 19 months-old, while a further two females fed on adult *Artemia* at 4 ind. L<sup>-1</sup> spawned when they were 24 and 29 months-old. The number of eggs from the first spawning events for the 19 and 24 month-old fish ranged from 24-46 eggs. Irrespective of the number of eggs produced within a batch by a particular female, the quantity of eggs produced had a trend to increase (max. no. of eggs obtained in a single batch was 263 eggs) with the size and age of fish. Abnormally low and unexpected temperature events throughout November 2015 and February 2016, however, led to a significant number of male fish dying. One female in the absence of her mate, however, continued to spawn indicating that *S. splendidus* are able to spawn without a male being present. The histology component of the study found that the onset of oogenesis and spermatogenesis began in fish aged 12 months-old, evident in females by the appearance of oocytes in several states of development. The histology results support the sequential number of eggs released by *S. splendidus* indicating they are a multiple spawner.

# สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
ชื่อเรื่องการวิจัย	i
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อภาษาไทย	iii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	v
สารบัญเรื่อง	vii
สารบัญภาพ	viii
สารบัญตาราง	x
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	8
ผลการวิจัย	21
สรุปและอภิปรายผลการวิจัย	48
ข้อเสนอแนะ	54
ผลผลิต	54
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก ก	65
ประวัตินักวิจัย	81



## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียเริ่มต้นการทดลองอายุ 1 ปี 2 เดือน	9
2	ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้เริ่มต้นการทดลองอายุ 1 ปี 2 เดือน	9
3	ตู้ทดลองที่มีหินเป็นที่ยึดสำหรับเป็นที่หลบซ่อนของปลาแมนดารินเขียว	
4	พื้นที่เก็บไข่ที่มีภาชนะสำหรับเก็บไข่ปลาแมนดารินเขียวและไปโอบอล	10
5	คุณภาพไข่ (%) ของปลาแมนดารินเขียวจากการผสมพันธุ์ออกไข่ 10 ครั้ง	10
6	ดอกไม้ทะเลแก้วขนาดใหญ่ (ซ้าย) และขนาดเล็ก (ขวา) ที่ระบาศในตู้ทดลอง	25
7	ลูกปลาแมนดารินอายุ 6 ชั่วโมง มีลำตัวใสและมีถุงไข่แดงขนาดใหญ่	26
8	ลูกปลาแมนดารินอายุ 6 ชั่วโมง ดวงตาไม่มีเม็ดสี อวัยวะภายในยังไม่พัฒนา	27
9	ลูกปลาแมนดารินอายุ 6 ชั่วโมง มีระบบทางเดินอาหารเป็นท่อนตรง	28
10	พัฒนาการการเจริญเติบโตของลูกปลาแมนดารินอายุ 1 ถึง 8 วัน	30
11	ลักษณะกระโดงครีบล้างของปลาแมนดารินเพศเมียและเพศผู้ที่ใช้ในการแยกเพศปลาจากลักษณะภายนอก	38
12	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 6 เดือน	39
13	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 6 เดือน	39
14	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 12 เดือน	40
15	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 15 เดือน	40
16	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 17 เดือน	41
17	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 19 เดือน	41
18	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 20 เดือน	42
19	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 24 เดือน	42
20	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมีย อายุ 32 เดือน สิ้นสุดการทดลองที่ 2 ที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยอัตรา 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง	43
21	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 32 เดือน สิ้นสุดการทดลองที่ 2 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยอัตรา 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง	43
22	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 32 เดือน สิ้นสุดการทดลองที่ 2 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยอัตรา 2 ตัว/ลิตร/ครั้ง	44

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 32 เดือน สิ้นสุดการทดลองที่ 2 ให้กินอาหารเม็ดสำเร็จรูป	44
24	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 12 เดือน	45
25	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 15 เดือน	45
26	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 17 เดือน	46
27	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 19 เดือน	46
28	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 20 เดือน	47
29	พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 24 เดือน	47

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่	
1	ชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ในอาหารทดลอง 12
2	คุณค่าทางอาหารอย่างหยาบ (proximate analysis) ของอาหารทดลอง 12
3	ขั้นตอนกระบวนการทางพาราฟินเทคนิค 17
4	ขั้นตอนการย้อมสีลูกปลาแมนดารินเขียว 18
5	ขั้นตอนการย้อมสีอวัยวะสืบพันธุ์ปลาแมนดารินเขียว 19
6	คุณค่าทางอาหารของอาร์ทีเมียแรกฟักอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินสไปรูไลนา อาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง <i>Tetraselmis gracilis</i> และ <i>Nanochoropsis oculata</i> หรือระหว่าง <i>T. gracilis</i> และไอโซโคลซิส <i>Isochrysis galbana</i> เป็นเวลา 1-3 ชั่วโมง 21
7	องค์ประกอบกรดไขมัน(%ของกรดไขมันทั้งหมด)ในอาร์ทีเมียแรกฟักอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มและอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมกัน 2 ชนิด 22
8	การเจริญเติบโตของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้และเพศเมีย 24
9	ความถี่การออกไข่ ปริมาณและคุณภาพไข่ปลาแมนดารินเขียว 25
10	คุณภาพน้ำเฉลี่ยในตู้ทดลองปลาแมนดารินเขียวของการทดลองที่ 1 31
11	ความถี่การออกไข่และจำนวนไข่ของปลาแมนดารินเขียวแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยเป็นอาหาร 2 ครั้งต่อวัน 32
12	คุณภาพน้ำเฉลี่ยตู้ทดลองพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวกินอาร์ทีเมีย 2 ตัว/ลิตร/ครั้ง 34
13	คุณภาพน้ำเฉลี่ยตู้ทดลองพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวกินอาร์ทีเมีย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง 35
14	คุณภาพน้ำเฉลี่ยตู้ทดลองพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวกินอาร์ทีเมีย 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง 36
15	คุณภาพน้ำเฉลี่ยในตู้ทดลองที่ให้พ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวกินอาหารเม็ด 37

## บทนำ

### เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปลาแมนดารินเขียว (green mandarinfish หรือ mandarin dragonet) ซึ่งเมื่อก่อนเคยถูกจำแนกเป็น *Callionymus splendidus*, *Neosynchiropus splendidus*, หรือ *Pterosynchiropus splendidus* (Thornhill, 2012) จัดอยู่ในอาณาจักรAnimalia ไฟลัม Chordata คลาส Actinopterygii อันดับ Perciformes อันดับย่อย Callionymoidei แฟมมีลี Callionymidae จีนัส *Synchiropus* สปีชีส์ *splendidus* (<http://en.wikipedia.org/wiki/Mandarinfish>) ปลาแมนดารินเขียวเป็นปลาทะเลขนาดเล็กมีสีส้มสวยงาม พบได้ในทะเลแถบประเทศญี่ปุ่นไปถึงทะเลแถบประเทศออสเตรเลีย พบในทะเลแถบอินโด-แปซิฟิก ประเทศฟิลิปปินส์ ประเทศอินโดนีเซีย เป็นต้น (Myers, 1999; Sadovy et. al., 2001; Wheeler, 1975) ปลาแมนดาริน (dragonet) มีลักษณะคล้ายกับปลาปู (gobies) มีขนาดเล็กเคลื่อนไหวช้า ออกหากินในเวลากลางคืนเริ่มตั้งแต่พลบค่ำ อาหารธรรมชาติของปลาแมนดารินเขียว ได้แก่แพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มครัสตาเซียนหรือสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในแนวปะการัง เช่น ฮาแพคติกอยโคพีพอด หนอนโพลีซีต ครัสตาเซียนขนาดเล็ก แอมฟิพอด กาสโทรพอด ออสคราคอด ไข่ปลาและแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็กอื่นๆ (Lieske and Myers 1994; Myers 1999; Randall et. al., 1990; Sadovy et. al., 2001) ปลาแมนดารินเขียวมักหลบซ่อนอยู่ตามซอกแนวหินหรือแนวปะการัง ปลาแมนดารินเขียวขนาดใหญ่ที่พบในธรรมชาติมีความยาวประมาณ 60-90 มิลลิเมตร ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้มีความยาวมากกว่าเพศเมีย (Rasotto et. al., 2010; Sadovy et. al., 2005; Wheeler, 1975) ซึ่งลักษณะที่ปลาเพศผู้มีความยาวมากกว่าเพศเมียเป็นลักษณะที่พบในปลา dragonet ชนิดอื่นด้วย (Gibson and Ezzi, 1979) นอกจากนี้ ปลา dragonet เพศผู้มีครีบหลังและครีบกันยาวกว่าและมีส่วนหัวใหญ่กว่าปลาเพศเมีย (Sadovy et. al., 2001; Sale, 2002) ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ใช้ครีบหลังที่ยาวแสดงอาณาบริเวณขอบเขตระหว่างปลาเพศผู้ด้วยกันแต่ใช้ครีบหลังที่ยาวนี้เพื่อดึงดูดความสนใจปลาเพศเมีย (Rasotto et. al., 2010) บริเวณส่วนหัวของปลา dragonet ตัวเต็มวัยรวมทั้งปลาแมนดารินเขียวมีรูเพื่อใช้แลกเปลี่ยนกาซออกซิเจนซึ่งพัฒนามาจากแผ่นเปิดปิดเหงือกสำหรับการหายใจ (Eda et. al., 1994a,b) ปลาแมนดารินเขียวมีผิวเรียบมันลื่นและมีสีส้มหลากหลายและมีเมือกเป็นพิษ (Paxton and Eschmeyer, 1998; Sadovy et. al., 2005) ลำตัวมีลวดลายสีฟ้าสลับกับสีน้ำตาลส้มเป็นจุดและเส้นโค้งไปมา ปลาแมนดารินเขียวใช้ครีบท้องที่มีขนาดใหญ่คืบคลานไปตามท้องทะเลสลับกับการว่ายน้ำเพื่อหาอาหาร สีส้มที่สวยงามของปลาแมนดารินเป็นสัญญาณบ่งบอกให้ศัตรูทราบถึงอันตรายในการจับปลาแมนดารินกินเป็นอาหาร (Sadovy et. al., 2005) ปลาแมนดารินเขียวอาจมีชีวิตอยู่ในธรรมชาติได้นาน 10-15 ปี (Thornhill, 2012)

ปลาแมนดารินเขียวมีพฤติกรรมการสืบพันธุ์คล้ายกับปลา dragonet อื่นๆ ในแฟมมีลี Callionymidae ที่มีพฤติกรรมการผสมพันธุ์ออกไข่ในเวลาประมาณพลบค่ำ (Gonzales et. al., 1996; Takita and Okamoto 1979; Takita et. al., 1983) ปลาแมนดารินเขียวในธรรมชาติที่เจริญพันธุ์แล้วมีขนาดประมาณ 30 มิลลิเมตรขึ้นไป (Sadovy et. al., 2001) ในเวลาพลบค่ำปลาแมนดารินเขียวเพศเมียออกมาจากที่หลบซ่อนอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 3-5 ตัว (Sadovy, 2001) หลังจากนั้นปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ว่ายน้ำเข้าไปในบริเวณที่ปลาเพศเมียอยู่เพื่อเกี่ยวพาราสิโดยการขยายครีบ ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียมักเลือกที่จะผสมพันธุ์กับปลาแมนดารินเพศผู้ขนาดใหญ่ (Rasotto et. al., 2010) หลังจาก

เลือกคู่ผสมพันธุ์แล้วปลาทั้งคู่ว่ายน้ำขึ้นไปสู่ท้องน้ำเหนือพื้นทะเลเพื่อผสมพันธุ์ (Rasotto et. al., 2010; Sadovy 2001,) ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ใช้ครีโบบรอบบริเวณที่ปล่อยไข่รูปกรวยของปลาเพศเมียก่อนผสมพันธุ์ ซึ่งพฤติกรรมเช่นนี้ถ้าปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ขนาดเล็กผสมพันธุ์กับปลาแมนดารินเขียวเพศเมียขนาดใหญ่ทำให้ไข่ที่ปล่อยออกมาเพียงบางส่วนได้รับการผสมกับสเปิร์ม (Rasotto et. al., 2010) นอกจากนี้ ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียและเพศผู้ขนาดใหญ่มีปริมาณไข่และสเปิร์มมากกว่าปลาชนิดเดียวกันขนาดเล็กตั้งนั้นจำนวนไข่ที่ได้รับการผสมพันธุ์จึงมีผลโดยตรงจากจำนวนสเปิร์ม (Rasotto et. al., 2010) ไข่ปลาแมนดารินเขียวเป็นไข่ลอยน้ำขนาดเล็กประมาณ 0.7–0.8 มิลลิเมตร ปลาแมนดารินเขียวออกไข่ครั้งละประมาณ 12–205 ใบ และไข่ฟักเป็นตัวใช้เวลาประมาณ 12.5 ถึง 16 ชั่วโมง ลูกปลาแมนดารินเขียวพัฒนาเป็นปลาวัยรุ่นใช้เวลาประมาณ 8 ถึง 9 วัน (Sadovy et. al., 2001)

ปัจจัยที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของปลาคือปัจจัยเกี่ยวกับตัวปลาเองและปัจจัยสิ่งแวดล้อม ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ได้แก่ สภาพแวดล้อมในการเลี้ยง ความหนาแน่นในการเลี้ยง คุณภาพและปริมาณอาหาร (Bardon-Albaret et. al., 2015) อุณหภูมิ (Zhu et. al., 1991) ระยะเวลาแสงส่องสว่าง (photoperiod) (Lam 1983) อิทธิพลจากดวงจันทร์ (Awata et. al., 2010; Robertson et. al. 1990) ความหลากหลายของชนิดและขนาดอาหาร (Griffin et. al., 2012; Sadovy et. al., 2001) การใช้ประโยชน์จากอาหาร (capture ingestion and digestion) (Vinagre et. al., 2008) องค์ประกอบคุณค่าทางอาหาร (Otero-Ferrer et. al., 2012) คุณภาพของอาหารพ่อแม่พันธุ์ (Izquierdo, Fernandez-Palacios and Tacon 2001) เป็นต้น ปัจจัยปริมาณและคุณภาพของอาหารมีอิทธิพลต่อขนาดของผลผลิตไข่หรือตัวอ่อนในท้องปลา (brood size) โดยมีผลต่อพัฒนาการของ gonad และ ovary ความแข็งแรงของสเปิร์ม (Fernández-Palacios et al. 2011; Forteach 1997; Foster and Vincent 2004; Lin et. al., 2007; Wong and Benzie 2003) สำหรับปัจจัยเกี่ยวกับตัวปลา ได้แก่ ความสมบูรณ์พันธุ์ ขนาดและอายุปลาวัยเจริญพันธุ์ (Bardon-Albaret et. al., 2015; Olivotto et. al., 2011) อวัยวะสืบพันธุ์พัฒนาไม่สมบูรณ์ (dysfunctions) (Bardon-Albaret et. al., 2015) เซลล์ไข่ (oocyte) ไม่พัฒนาหรือพัฒนาไม่สมบูรณ์ คุณภาพและปริมาณสเปิร์มลดลง (Mylonas et. al., 2010; Zohar and Mylonas 2001) เป็นต้น

ความสมบูรณ์พันธุ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาเพศผู้และเพศเมียที่ศึกษาจากพัฒนาการของ oocytes และ sperms โดยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยาและใช้ระยะพัฒนาการของไข่และเปิร์มที่พัฒนาการมากที่สุดที่พบใน ovary และ testis เป็นดัชนีแบ่งระยะพัฒนาการ ตามวิธีการศึกษาของ Grier, Uribe-Aranzabel and Patino (2009) และวิธีของ Brown-Peterson et al, (2011) สามารถแบ่งระยะพัฒนาการของรังไข่ปลาดังนี้

- 1) รังไข่ระยะไม่เจริญพันธุ์ (immature or regenerating) ในรังไข่พบเฉพาะไข่ระยะ primary growth (primary growth oocytes)
- 2) รังไข่ระยะเริ่มต้นพัฒนา (early developing) ในรังไข่พบไข่ระยะ cortical alveolar ซึ่ง cortical alveolar vesicles เป็น yolk proteins ใน cytoplasm (cortical alveolar oocytes)
- 3) รังไข่ระยะกำลังพัฒนา (developing) ในรังไข่พบไข่ระยะเริ่มต้นของการสร้างไข่แดง (primary

vitellogenic oocytes) ซึ่งมีไข่แดงเม็ดเล็กๆจำนวนเล็กน้อยและพบไข่ในระยะการสร้าง/สะสมไข่แดงระยะที่สอง (secondary vitellogenic oocytes) ซึ่งหนึ่งในสามของไข่ (oocyte) เต็มไปด้วยเม็ดไข่แดงเม็ดเล็กและขนาดของไข่ขยายใหญ่ขึ้น

4) ไข่ระยะที่สามารถปล่อยไข่ (spawning capable) ในรังไข่พบระยะการสร้างไข่แดงระยะที่สาม (tertiary vitellogenic oocytes) ใน cytoplasm เต็มไปด้วยเม็ดไข่แดงเล็กๆจำนวนมาก

พัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของปลาเพศผู้ (testes) แบ่งตามวิธีของ Brown-Peterson et al (2011) อ้างโดย Bardon-Albaret et al (2015) มีดังนี้

1) Testes ระยะกำลังสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (immature or regenerating) พบ spermatogonia แต่ยังไม่มีการสร้างเสปิร์มระยะที่มีการเคลื่อนไหว

2) Testes ระยะกำลังพัฒนา (developing) ในระยะนี้มีการสร้างเซลล์เสปิร์มระยะที่เคลื่อนไหวได้ (active spermatogenesis) ในถุง spermatocysts พบเสปิร์มระยะ spermatocytes และระยะ spermatids แต่ใน lumens ไม่พบเสปิร์มระยะ spermatozoa

3) Testes ระยะที่สามารถปล่อยเสปิร์ม (spawning capable) ในระยะนี้พบเสปิร์มทุกระยะของกระบวนการสร้างเสปิร์ม (spermatogenesis เช่น spermatogonia spermatocytes spermatids และ spermatozoa ใน lumens ของ lobules

ปลามีพฤติกรรมการเลือกกินอาหารเพื่อใช้พลังงานในการล่าเหยื่อให้มีประสิทธิภาพที่สุดในขณะเดียวกันเพื่อให้ได้มาซึ่งพลังงานและสารอาหารที่เพียงพอต่อความต้องการ (Priede, 1985; Pyke, 1984; Sih, 1980) ปลาขนาดเล็กเลือกกินเหยื่อขนาดเล็กเมื่อปลาโตขึ้นเลือกกินอาหารที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (Cunha and Planas, 1999; Payne and Rippingale, 2000; Schmitt, 1986) เหยื่อที่มีขนาดใหญ่ให้พลังงานมากกว่าเหยื่อขนาดเล็ก (Celino et. al., 2012; Payne and Rippingale, 2000) และปลาใช้พลังงานในการล่าเหยื่อขนาดใหญ่น้อยกว่าเนื่องจากเหยื่อที่มีขนาดเล็กต้องกินในปริมาณหลายตัวเพื่อให้ได้พลังงานเพียงพอต่อความต้องการ (Dhont and Lavens, 1996) แต่อย่างไรก็ตาม เหยื่อที่มีขนาดใหญ่มากเกินไปปลาจับกินได้ยากและปลาต้องใช้พลังงานมากขึ้นในการจับเหยื่อและกลืนกินเหยื่อ ปัจจัยที่มีผลต่อการเลือกกินเหยื่อของปลา ได้แก่ ปัจจัยเกี่ยวกับเหยื่อ (Cunha and Planas, 1999; Olivotto et. al., 2010) ปัจจัยเกี่ยวกับปลา (Cunha and Planas, 1999; Olivotto et. al., 2010) และปัจจัยสิ่งแวดล้อม (Olivotto et. al., 2010) ปัจจัยเกี่ยวกับเหยื่อ เช่น ขนาด ความหนาแน่นและการเคลื่อนที่ของเหยื่อ (Olivotto et al. 2010) ชนิดของอาหาร (Dendrinis et. al., 1984) ชนิดอาหารและความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร (Griffin et. al., 2012) รูปร่างและการเคลื่อนที่ของเหยื่อ (Holmes and Gibson, 1986) ปัจจัยเกี่ยวกับปลา เช่น ความสามารถในการรับรู้เกี่ยวกับเหยื่อ (Juanes et al., 2002) การมองเห็นเหยื่อที่ชัดเจน (Juanes et al., 2002; Neave, 1984) ความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของปากและขนาดของเหยื่อ (Shirota, 1970) ความสามารถในการเคลื่อนที่ของลูกปลา (Olivotto et. al., 2010) และ ปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น ความเข้มแสง ช่วงแสง ความขุ่นใสของน้ำและอุณหภูมิ (Olivotto et. al., 2010) ปลากินแพลงก์ตอนสัตว์สามารถหาเหยื่อเจอได้จากการมองเห็นเหยื่อและการสัมผัสตัวเหยื่อ (Holzman and Genin, 2003; Janssen 1997; Ryer and Olla 1999) การที่ปลาเจอกับเหยื่อขนาดเล็กแต่เลือกที่จะไม่กินอาหารที่มีขนาดเล็กนั้นเนื่องมาจากเหยื่อขนาดเล็กมีสารอาหารที่ให้พลังงานน้อย (Charnov 1976) หรืออาจเนื่องมาจากความสามารถในการมองเห็นขนาดเล็กเหยื่อได้น้อยจึงมีโอกาเจอและจับเหยื่อกินลดลง (Eggers, 1977) หรือเนื่องมาจากทั้งสองอย่าง (Janssen, 1997; Ryer and Olla, 1999; Holzman and Genin, 2003)

ชนิดขนาดและความอุดมสมบูรณ์ของอาหารมีชีวิตมีผลต่อพฤติกรรมการเลือกกินอาหารของปลาที่อาศัยในสิ่งแวดล้อมนั้น พฤติกรรมการเลือกกินอาหารของปลาขึ้นกับโอกาสที่ปลาเจอกับเหยื่อและประสิทธิภาพการกินอาหาร (ประสิทธิภาพการกินอาหารคืออัตราส่วนระหว่างการกินอาหารและโอกาสเจอและจับกินเหยื่อ) แต่เมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนไปปลาสามารถปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการเลือกกินอาหารได้เพื่อให้ได้สารอาหารและพลังงานตามความต้องการ (Pinnegar et. al., 2003) ปลามีโอกาสในการจับกินเหยื่อที่มีขนาดใหญ่มากกว่าเหยื่อที่มีขนาดเล็กโดยเฉพาะปลาที่มีประสิทธิภาพในการมองเห็นต่ำและหากินตอนกลางคืน (Holzman and Genin, 2005) ขนาดของอาหารที่มีความเหมาะสมกับขนาดปากมีผลโดยตรงกับความสามารถในการจับกินอาหารของปลา (Mittelbach and Persson, 1998; Wittenrich, 2007) พฤติกรรมการเลือกกินเหยื่อชนิดที่ชอบและมีขนาดตามความต้องการขึ้นกับความหนาแน่นและความอุดมสมบูรณ์ของเหยื่อแต่ละชนิดที่มีในปริมาณมากในสิ่งแวดล้อม ที่อยู่อาศัย (Amundsen, 1994; Floeter and Temming, 2003; Griffiths, 1975; Popova, 1978) ปลาที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์มีพฤติกรรมการเลือกกินอาหารคล้ายคลึงกัน (Cantanhède et. al., 2009; Griffin et. al., 2012; Hyvärinen and Huusko, 2006) เมื่อปลาอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเหยื่อหลากหลายชนิดและความอุดมสมบูรณ์ของเหยื่อในปริมาณใกล้เคียงกันปลาจะกินเหยื่อแต่ละชนิดในปริมาณใกล้เคียงกัน แต่เมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปและมีเหยื่อชนิดใดชนิดหนึ่งจำนวนมาก (>50% ของปริมาณเหยื่อทั้งหมด) ปลาเลือกกินเหยื่อชนิดที่มีมากที่สุดที่สุดในบริเวณที่อยู่อาศัยนั้นเป็นอาหารหลัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโอกาสที่ปลาได้เจอกับเหยื่อที่มีปริมาณมากที่สุดบ่อยครั้ง (Cantanhède et. al., 2009; Chesson, 1978; Griffiths, 1975 ) และปลามีพฤติกรรมเลือกกินเหยื่อมากขึ้นในบริเวณที่มีเหยื่อปริมาณมากเนื่องจากโอกาสในการเจอกับเหยื่อมากขึ้น (Maszczyk and Maciej Gliwicz, 2014; O'Brien et. al. 1976) เมื่อปลาอาศัยอยู่ในแหล่งที่มีแพลงก์ตอนสัตว์มีความอุดมสมบูรณ์มากขึ้น ปลาเลือกที่จะกินเหยื่อขนาดใหญ่ เห็นได้ง่าย และให้พลังงานสูง (Eggers, 1982; Magnhagen, 1985; Mittelbach 1981) ปลาที่กินปลาเป็นอาหาร (Piscivorous fishes) มีพฤติกรรมการเลือกกินอาหารโดยเลือกจากชนิดและขนาดของเหยื่อ แต่ปลาพิจารณาจากขนาดของเหยื่อมากกว่าพิจารณาจากชนิดของเหยื่อ (Juanes et. al., 2002; Tonn et. al., 1992) ปลา *Acestrorhynchus pantaneiro* เป็นปลาที่กินปลาเป็นอาหารเช่นกัน เมื่อปลาอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเหยื่อหลายชนิดในปริมาณใกล้เคียงกันปลาชนิดนี้มีพฤติกรรมในการเลือกกินเหยื่อโดยพิจารณาทั้งชนิดและขนาดของเหยื่อ แต่เมื่อความหลากหลายและความสมดุลงของชนิดอาหารลดลง ปลา *A. pantaneiro* เลือกกินอาหารชนิดที่โดดเด่นในแหล่งน้ำนั้นเป็นหลัก (Cantanhède et. al, 2009)

อาหารมีชีวิตที่ใช้กันแพร่หลายในการเลี้ยงและเพาะพันธุ์ปลาคืออาร์ทีเมียเนื่องจากเลี้ยงง่ายและหาซื้อได้ทั่วไป (Planas et. al., 2008; Wong and Benzie, 2003; Woods and Valentino, 2003) อาร์ทีเมียกินอาหารโดยการกรองและไม่เลือกชนิดอาหาร เช่น สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก แพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก แบคทีเรีย เป็นต้น ซึ่งแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็กเป็นอาหารหลักที่ใช้เลี้ยงอาร์ทีเมีย อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายอบแห้งมีการเจริญเติบโตดีถ้าคุณภาพน้ำเหมาะสมต่อการเลี้ยง (Dhont and Lavens, 1996; Lavens and Sorgeloos, 1987) การใช้อาร์ทีเมียเป็นอาหารในปลาบางชนิดมีปัญหาในเรื่องการย่อยได้ยากและปัญหามือองค์ประกอบสารอาหารบางชนิดไม่เหมาะสมต่อความต้องการของปลาทะเล (Olivotto et. al., 2008; Payne and Rippingale, 2000) อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยแต่ละสายพันธุ์มีกรดอミノไม่แตกต่างกันและอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยมีกรดอミノเป็นองค์ประกอบสูงกว่าอาร์ทีเมียขนาดเล็ก แต่อย่างไรก็ตาม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยมีองค์ประกอบของกรดไขมันและการเผาผลาญกรดไขมันแตกต่างกัน

ในแต่ละสายพันธุ์และแต่ละแหล่งเลี้ยงซึ่งคุณภาพของไขมันและกรดไขมันผันแปรตามตามชนิดอาหารที่ได้รับ (Dhont and Lavens, 1996) อาร์ทีเมียขาดกรดไขมันที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำชนิดโฮยิวในกลุ่มโอเมก้า 3 (highly unsaturated fatty acid, n3-HUFA) (Olivotto et. al., 2006; Payne and Rippingale, 2000) ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการเสริมกรดไขมันในอาหารอาร์ทีเมียหลังจากอาร์ทีเมียลอกคราบครั้งแรก (ประมาณ 8 ชั่วโมงหลังฟักเป็นตัว) การเสริมคุณค่าทางอาหารในอาร์ทีเมียตัวโตสามารถเสริมอาหารได้ในระยะเวลาสั้นเนื่องจากประสิทธิภาพการกรอกกินอาหารของอาร์ทีเมียตัวโตดีกว่าอาร์ทีเมียตัวเล็ก (Dhont and Lavens, 1996)

### ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

Wabnitz et. al. (2003) รายงานว่าสัตว์น้ำทะเลหลายชนิดที่ขายในธุรกิจการค้าขายสัตว์น้ำสวยงามได้มาจากการเพาะเลี้ยงไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ในเวลาต่อมา Thornhill (2012) รายงานเพิ่มเติมว่าปลาในแนวปะการังสวยงามที่ขายในธุรกิจสัตว์น้ำสวยงามนี้ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ได้มาจากการเพาะเลี้ยง และ 95 เปอร์เซ็นต์ถูกจับมาจากการธรรมชาติและมีมูลค่าการซื้อขายสัตว์ทะเลสวยงามเหล่านี้ประมาณ 200-330 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ปลาแมนดารินมีสีสันและลวดลายบนลำตัวสวยงามสะดุดตาเป็นที่ต้องการของนักเลี้ยงปลาตู้ทะเลสวยงามจึงถูกจับจากธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง ปลา dragonets สองชนิดนักเลี้ยงปลาตู้ทะเลสวยงามนิยมคือปลาแมนดารินเขียว *S. splendidus* และปลาแมนดารินจุด *S. picturatus* ปลาแมนดารินเขียวเป็นหนึ่งใน 20 อันดับชนิดปลาในแนวปะการังที่ส่งมาขายมากที่สุดในประเทศสหรัฐอเมริกา (Rhyne et. al., 2012) ในระหว่างปี ค. ศ. 1987 ถึง 1995 ประชากรปลาแมนดารินที่ถูกจับมาขายอย่างมากจากเกาะ Batasan Island ประเทศฟิลิปปินส์และประมาณ 70% ของปลาแมนดารินที่ถูกจับมาขายเป็นปลาเพศผู้ขนาดใหญ่ (Sadovy et. al., 2001) มีผลกระทบต่อประชากรและขนาดของปลาแมนดารินเขียวในธรรมชาติ จากการสำรวจในช่วง ค.ศ. 1980s พบปลาแมนดารินธรรมชาติมีขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 60 มิลลิเมตร แต่ในปี ค.ศ. 2000 พบปลาแมนดารินธรรมชาติมีขนาดเฉลี่ย 30 มิลลิเมตร (Sadovy et. al., 2001; Wabnitz et. al., 2003) ดังนั้น การจับปลาแมนดารินเฉพาะเพศผู้ที่มีขนาดใหญ่มาขายจึงกระทบต่อการสืบพันธุ์ปลาแมนดาริน (Sadovy et. al., 2001; Vincent and Sadovy, 1998) ปัญหาการจับปลาแมนดารินจากธรรมชาติที่มีผลกระทบต่อ การสืบพันธุ์และระบบนิเวศน์ปลาแมนดารินเป็นปัญหาที่เกิดขึ้นกับกับปลาทะเลสวยงามในแนวปะการังชนิดอื่นๆ เช่นกัน ดังนั้นนักวิจัยจึงพยายามพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเลสวยงามในที่กักขังมากขึ้นและประสพผลสำเร็จในปลาหลายชนิด เช่น ปลาการ์ตูนลายปล้องหางเหลือง *Amphiprion clarkii* (Olivotto et. al., 2008) ปลาสีนสมุท lemonpeel Angelfish *Centropyge flavissimus* (Olivotto et. al., 2006) ปลาตู้ cleaner goby *Gobiosoma evelynae* (Olivotto et. al., 2005) เป็นต้น สำหรับปลา dragonets เช่น *Paradiplogrammus enneactis* (Eda et. al., 1997), *Repomucenus beniteguri* (Eda et. al., 1994a) *R. richardsonii* และ *R. Valenciennesi* (Eda et. al., 1994b) รวมทั้งปลาแมนดารินเขียว (Sadovy et. al., 2001) รายงานวิจัยเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยพัฒนาการของลูกปลา แต่ยังไม่มียางานการวิจัยถึงผลของอาหารที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวต่อระบบสืบพันธุ์และผลผลิตไข่ในปลาแมนดารินเขียว

ในการเพาะพันธุ์ปลาทะเลสวยงามในที่กักขัง ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่มีผลต่อการสืบพันธุ์และผลผลิตของปลา คืออาหารที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลา (Otero-Ferrer et. al., 2012) อาหารที่



พ่อแม่พันธุ์ปลาได้รับจึงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับกระบวนการสืบพันธุ์ของปลาวัยเจริญพันธุ์ (Hamoutene et. al, 2013) และต่อผลผลิตของปลา (Fernández-Palacios et. al, 2011; Luquet and Watanabe 1986 Otero-Ferrer et. al, 2012) เช่น มีผลต่อพัฒนาการของ gonad และปริมาณของไข่ปลา (Lin et. al., 2006; Wong and Benzie 2003;) พัฒนาการของเซลล์ไข่ (oocyte) และเสปิร์ม (Mylonas et. al., 2010; Zohar and Mylonas 2001) พัฒนาการของตัวอ่อน (Olivotto et. al., 2011) ซึ่งปัญหาเหล่านี้มีผลต่อเนื่องมาสู่ปัญหาไข่ไม่ได้รับการผสม (Bardon-Albaret et. al., 2015) คุณภาพของไข่ การฟักเป็นตัว การเจริญเติบโตและการรอดตายของลูกปลา (Kruger et. al, 2001; Otero-Ferrer et. al, 2012) ในการเพาะพันธุ์ปลาในที่กักขัง อาหารที่นำมาเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาทะเลสวยงามและปลาสามารถสืบพันธุ์ได้ประกอบด้วยอาหารมีชีวิต อาหารสดและอาหารสำเร็จรูป ปลาทะเลสวยงาม red head goby, *Elacatinus puncticulatus* ที่ให้กินอาหารสด สืบสามารถสืบพันธุ์และวางไข่ได้ (Pedrazzania et. al., 2014) ปลาสีนสมุท lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus* (Olivotto et. al., 2006) และปลา flame angelfish (*Centropyge loriculus*) (Callan et. al., 2014) ที่ให้กินอาหารสดสับผสมกับกับอาหารแผ่นสามารถสืบพันธุ์ได้ ในปลาแม่น้ำและปลาในแฟมมีลีเดียวกัน เช่น *Hippocampus whitei* (Bleeker, 1855) และ *H. kuda* (Wong and Benzie 2003; Lin et. al. 2007) และ *H. hippocampus* (Otero-Ferrer et al., 2012) ยอมรับเฉพาะอาหารมีชีวิตซึ่งปลาเหล่านี้ที่ให้กินแพลงก์ตอนสัตว์ที่รวบรวมจากธรรมชาติ อาร์ทีเมียและไมซิสมีการเจริญเติบโตดีและสามารถสืบพันธุ์ได้ในที่กักขัง (Forteath, 1997; Lin et. al., 2007, 2008, 2009; Chang and Southgate, 2001; Wong and Benzie, 2003; Woods and Valentino, 2003; Woods 2005) ปลาแมนดารินเขียวธรรมชาติมีพฤติกรรมการเลือกกินเฉพาะอาหารมีชีวิต เช่น แพลงก์ตอนสัตว์หลายชนิดที่มีขนาดเล็กและใหญ่ เช่น โคพีพอด ครัสตาเซียน หลายขนาดและโพลีซีต (Sadovy et. al., 2001) จึงเป็นข้อจำกัดหนึ่งในการเพาะเลี้ยงปลาแมนดารินเขียวในที่กักขัง (Thornhill, 2012) และแพลงก์ตอนสัตว์ที่เป็นอาหารธรรมชาติของปลาแมนดารินเขียวเหล่านี้เพาะขยายในที่กักขังได้ยากและปริมาณแพลงก์ตอนสัตว์ที่เกิดในตู้เพาะเลี้ยงมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการในระยะยาวถึงแม้ว่าในทางปฏิบัติปลาแมนดารินเขียวบางส่วนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงสามารถฝึกให้กินอาหารเม็ดได้ (Thornhill, 2012) แต่ยังไม่มียางานการวิจัยในการนำมาใช้เป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์ ในรายงานวิจัยนี้แบ่งการวิจัยเป็นสองระยะ ในระยะแรกเป็นการศึกษาขนาดและความอุดมสมบูรณ์ของอาหารโดยใช้อาร์ทีเมียเสริมคุณค่าทางอาหารซึ่งหาได้ง่ายสะดวกในการนำมาใช้ โดยอาร์ทีเมียแรกเกิดเป็นอาหารมีชีวิตที่มีขนาดใกล้เคียงกับโคพีพอดและอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยขนาดใหญ่ว่ายน้ำช้า และในระยะที่สองเป็นการเปรียบเทียบการเลี้ยงปลาแมนดารินเขียวด้วยอาหารมีชีวิตและอาหารเม็ด จนกระทั่งพ่อแม่พันธุ์ปลาสืบพันธุ์ได้ ข้อมูลการศึกษาการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารต่างๆเหล่านี้ร่วมกับการศึกษาพัฒนาการระบบสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียวตั้งแต่ระยะวัยรุ่นจนกระทั่งเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์สามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงเทคนิคการเพาะเลี้ยงปลาแมนดารินเขียวต่อไป

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ทั่วไปของการทดลองคือศึกษาผลของขนาดและความอุดมสมบูรณ์ของอาหารมีชีวิตและชนิดอาหารต่อการสืบพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวและผลผลิตโดยมีวัตถุประสงค์ย่อยดังนี้

การทดลองเบื้องต้น (ปีที่ 1)

1. เพื่อศึกษาผลของขนาดและความอุดมสมบูรณ์ของอาร์ทีเมียในการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวต่อผลผลิตไข่และลูกปลาแมนดารินเขียว

การทดลองระยะยาว (ปีที่ 2)

1. เพื่อศึกษาผลของการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวด้วยอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยและอาหารสำเร็จรูปต่อการสืบพันธุ์และผลผลิต เช่น ความถี่ในการออกไข่และความตกของไข่ เป็นต้น
2. เพื่อศึกษาพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ปลาแมนดารินเขียวระยะวัยรุ่นจนกระทั่งเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์

### ขอบเขตของโครงการวิจัย

ในโครงการวิจัยนี้แบ่งออกเป็นสองการทดลอง ในการทดลองปีที่ 1 เริ่มต้นการทดลองเมื่อปลาแมนดารินเขียว (F1) อายุ 1 ปี 2 เดือน อาหารทดลองประกอบด้วย 1) อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2) อาร์ทีเมียแรกเกิดและอาร์ทีเมียผสมระหว่างอาร์ทีเมียแรกเกิดและตัวเต็มวัยในอัตราส่วนต่างๆกัน ทำการทดลองจนกระทั่งพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวผสมพันธุ์ออกไข่ และผลของอาหารทดลองที่ดีที่สุดจากการทดลองเบื้องต้นนี้ถูกนำมาเป็นอาหารชุดควบคุมในการทดลองปีที่ 2

การทดลองปีที่ 2 ทำการอนุบาลลูกปลาแมนดารินเขียว (F1) ในโรงเพาะเลี้ยงของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลและเริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งปลาแมนดารินเขียวอายุ 1 ปี 3 เดือน (15 เดือน) อาหารทดลองประกอบด้วยทรีตเมนต์อาหารที่ดีที่สุดจากการทดลองปีที่ 1 คืออาร์ทีเมียตัวเต็มวัย (เป็นทรีตเมนต์ควบคุม) 2) อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยในอัตราส่วนการให้ที่แตกต่างกันและ 3) อาหารเม็ดชนิดจมน้ำ และเปรียบเทียบผลของการให้อาหารเหล่านี้ต่อการสืบพันธุ์และผลผลิตไข่ปลาแมนดารินเขียว (F2) เช่น อายุปลาแมนดารินที่ผสมพันธุ์ออกไข่ ความถี่ในการออกไข่ ความตกของไข่ เป็นต้น นอกจากนี้ ปลาแมนดารินที่เกิดจากการเพาะเลี้ยง (F1) ในชุดเดียวกันนี้บางส่วนได้ถูกนำมาศึกษาพัฒนาการระบบสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียวด้วย

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบผลของขนาดอาร์ทีเมียและความหนาแน่นของอาร์ทีเมียต่อการสืบพันธุ์และผลผลิตพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียว
2. ทราบผลของการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปและการเลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยในอัตราความหนาแน่นต่างๆต่อการสืบพันธุ์และผลผลิตไข่ปลาแมนดารินเขียว
3. ทราบพัฒนาการระบบสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียวระยะวัยรุ่นจนกระทั่งเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์
4. ได้องค์ความรู้พื้นฐานในการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินและสามารถนำไปประกอบพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงปลาแมนดารินเขียวต่อไป
5. การเผยแพร่ในวารสารทางวิชาการ บทความทางวิชาการ

## วิธีดำเนินการวิจัย

### เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

#### เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับเนื้อเยื่อวิทยา

เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (rotary microtome), แอลกอฮอล์, xylene, xylene substitute, paraplast, egg albumin adhesive, สีย้อมharris hematoxylin, สีย้อม eosin Y, สไลด์, water bath, slide warmer, ใบมีดตัดเนื้อเยื่อ (microtome blades, leica 818), ชุดย้อมสไลด์ เป็นต้น

#### เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

เครื่องมือวัดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Hach-senION6) อุณหภูมิ (Hach-senION2) ความเค็ม (Salino-refractometer ATAGO รุ่น S/mill-E) ความเป็นกรด-ด่าง (Hach รุ่น sen Ion2) เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ปิเปต หลอดทดลอง กระจกตวง ฟลาสก์ ปีกเกอร์ ฟินอล เอ ทิลแอลกอฮอล์ โซเดียมซิเตรท โซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ โซเดียมไนโตรพลัสไซด์ ซัลฟานิลาไมด์ แอมโมเนียมโมลิบเดต กรดซัลฟูริก กรดแอสคอบิก โปแตสเซียมแอมโมนิลทราเทรท กรดไฮโดรครอลิก แอมโมเนียมโครไรต์ คอปเปอร์ โซเดียมคาร์บอเนต โซเดียมคลอไรด์ เมททิลออเรนจ์ แคดเมียม (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) disodium salt, N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine dihydrochloride, Eriochrome blue black R indicator เป็นต้น

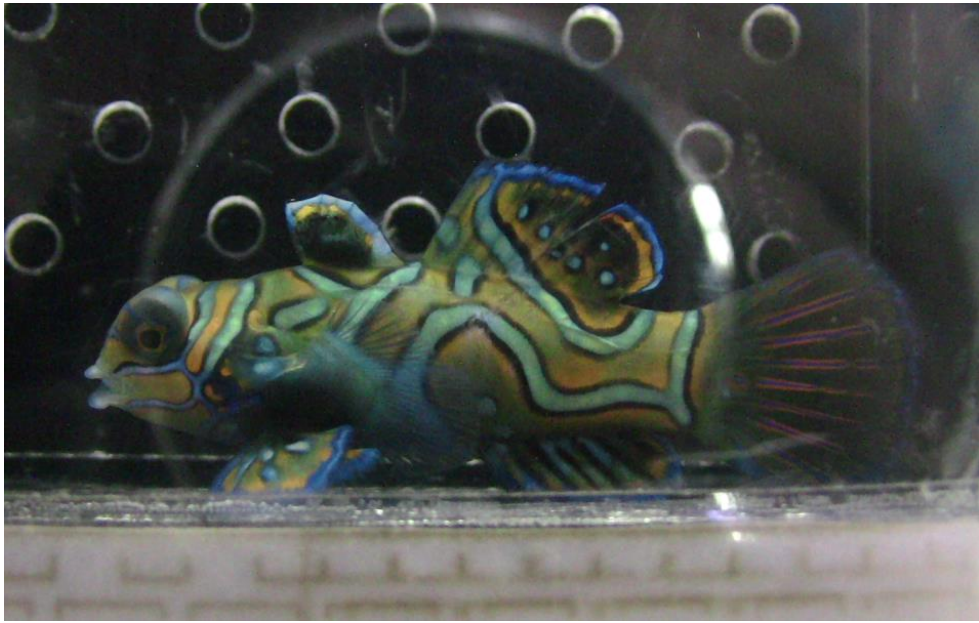
#### เครื่องมืออุปกรณ์ในการทดลองและอาหารสำหรับทดลอง

แพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด (*Nanochloropsis oculata.*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis gracilis*) ไข่อาร์ทีเมีย น้ำทะเล ตู้กระจกทดลองเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินขนาด 45 x 120 x 50 เซนติเมตร (30 ลิตร) ตู้กระจกอนุบาลลูกปลาแมนดารินเขียวขนาด 30 ลิตร ถังไฟเบอร์สำหรับเพาะฟักไข่อาร์ทีเมีย และถังฟักอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยขนาด 100 ลิตร เครื่องปั๊มอากาศ และอุปกรณ์การเพาะเลี้ยง เป็นต้น

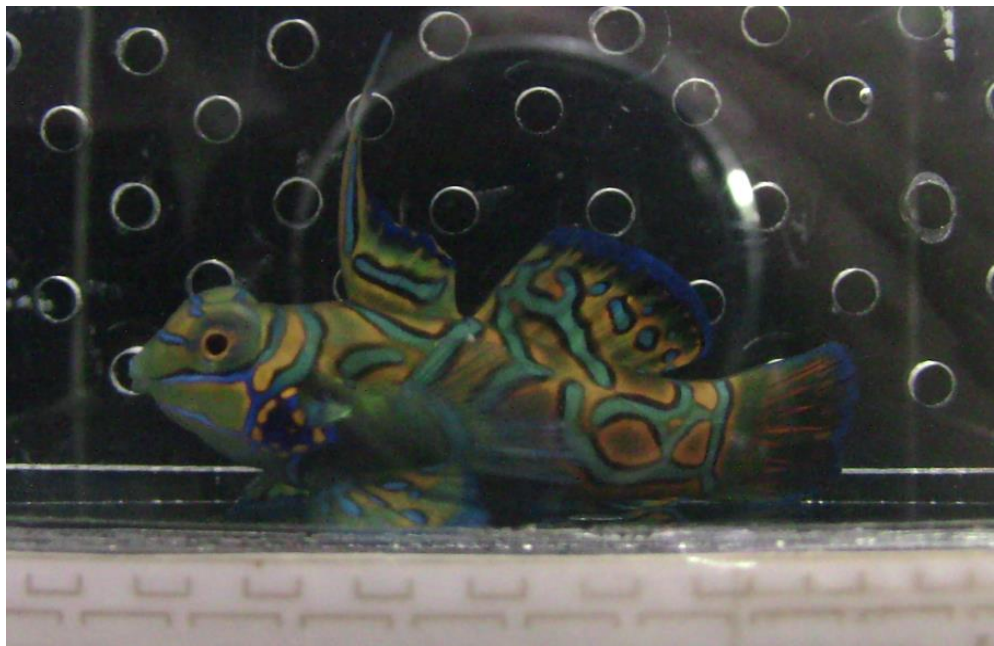
### การดำเนินการทดลอง

#### การจัดเตรียมพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดาริน (F1)

พ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวที่ใช้ในการทดลองทั้งสองการทดลองเป็นปลาแมนดารินที่เกิดจากพ่อแม่พันธุ์ธรรมชาติ โดยทำการอนุบาลลูกปลาแมนดารินเขียวในตู้กระจกขนาด 30 ลิตร ณ โรงเรือนสาธิตการเพาะเลี้ยงของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ในการทดลองทั้ง 2 การทดลองใช้ปลาแมนดารินเขียวจำนวน 12 คู่ ในการทดลองที่ 1 เริ่มต้นการทดลองเมื่อปลาแมนดารินมีอายุ 1 ปี 2 เดือนและในการทดลองที่ 2 เริ่มต้นการทดลองเมื่อปลาแมนดารินมีอายุ 1 ปี 3 เดือน (ลูกปลาแมนดารินเขียวที่ใช้ในการทดลองที่ 2 เกิดจากพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินธรรมชาติ 3 คู่ ที่เลี้ยงไว้ในตู้พ่อแม่พันธุ์ในโรงเรือนสาธิตการเพาะเลี้ยงสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล และลูกปลาเกิดเมื่อวันที่ 5 วันที่ 6 และวันที่ 7 ตุลาคม 2556) โดยทำการชั่งน้ำหนักปลาแมนดารินเขียวเพศผู้และเพศเมียชนิดละ 12 ตัว จำนวน 24 ตัวหลังจากนั้นถ่ายภาพปลาเพื่อนำไปวัดความยาวลำตัวปลาด้วยโปรแกรม Image tool version 3 (IT3)



ภาพที่ 1 ปลาแมนดารินเขียวเพศเมีย



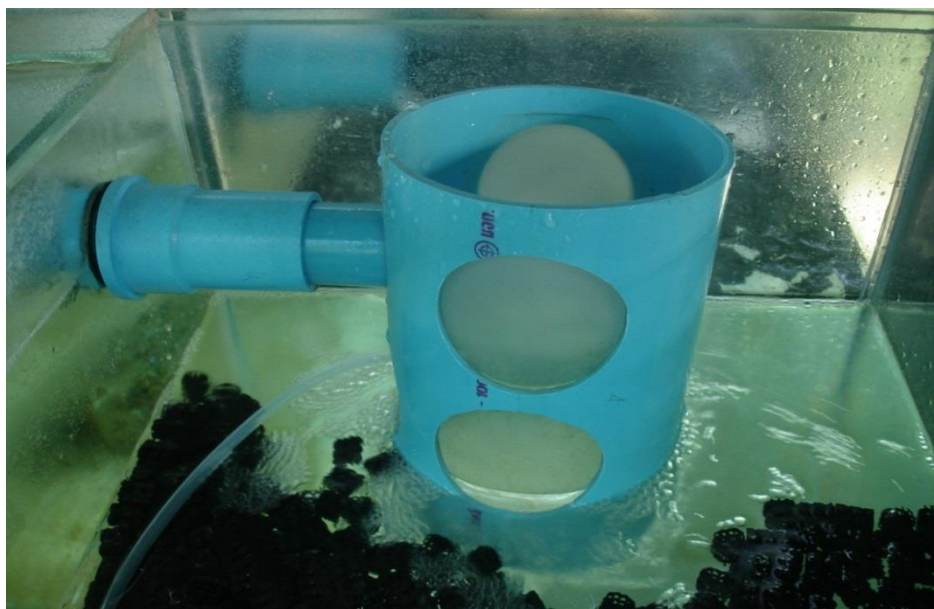
ภาพที่ 2 ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ที่ใช้ในการทดลอง

### การเตรียมตู้ทดลอง

ในการทดลองที่ 1 และ 2 ทำการทดลองเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดาริน F1 ในตู้กระจกขนาด 45x120x50 เซนติเมตรบรรจุน้ำทะเล 270 ลิตร ตู้ทดลองนี้ถูกแบ่งออกเป็นสองส่วนคือส่วนเลี้ยงปลาขนาด 45x80 x 50 เซนติเมตรบรรจุน้ำทะเล 180 ลิตรและส่วนเก็บไข่ขนาด 45x40 x 50 เซนติเมตร 90 ลิตร ตามลำดับ บริเวณพื้นตู้เลี้ยงปลาใส่ทรายและหินเป็นเทียมเพื่อให้ปลาแมนดารินหลบซ่อนตัว (ภาพที่ ) ส่วนพื้นที่เก็บไข่ใส่กระบอกเก็บไข่และไบโอบอลเพื่อใช้เป็นระบบกรอง (ภาพที่ )



ภาพที่ 3 ตู้ทดลองที่มีหินเป็นเทียมสำหรับเป็นที่หลบซ่อนของปลาแมนดารินเขียว



ภาพที่ 4 พื้นที่เก็บไข่ที่มีภาชนะสำหรับเก็บไข่ปลาแมนดารินเขียวและไบโอบอล

## การจัดเตรียมอาหารทดลอง

### การทดลองที่ 1 การเตรียมอาร์ทีเมียแรกฟักและอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย

#### การเตรียมอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย

ซื้ออาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มเลี้ยงอาร์ทีเมีย (บรรจงฟาร์ม จ. ฉะเชิงเทรา) สัปดาห์ละ 2-3 ครั้ง ในแต่ละครั้งแยกอาร์ทีเมียน้ำหนักประมาณ 200 กรัมมาพักในถังไฟเบอร์บรรจุน้ำทะเล 100 ลิตร ความเค็มน้ำทะเล 32-34 พีพีที ให้อาร์ทีเมียกินสาหร่ายสไปรูไลนาอบแห้งในอัตราการใช้ 1-2 กรัม/วันและให้แพลงก์ตอนพืช *T. gracilis* เพิ่มในอัตราความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย  $1.4 \times 10^3 - 2.0 \times 10^4$  เซลล์/มิลลิลิตร/ครั้ง/วัน

#### การเตรียมอาร์ทีเมียแรกฟัก

ทำการเพาะฟักไข่อาร์ทีเมียทุกวันในน้ำทะเลความเค็มประมาณ 33 พีพีทีและเติมอากาศตลอดเวลาเป็นระยะเวลา 20-24 ชั่วโมง ทำการแยกอาร์เมียออกจากเปลือกไข่อย่างน้อยจำนวน 2 ครั้งก่อนนำไปใช้เป็นอาหารทดลอง อาร์ทีเมียแรกฟักแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำไปใช้เป็นอาหารทดลองครั้งแรกของแต่ละวันและอาร์ทีเมียแรกฟักส่วนที่สองนำไปเสริมสารอาหารก่อนนำไปใช้เป็นอาหารทดลองครั้งที่สองของปลาแมนดารินเขียว

#### การเสริมสารอาหารในอาร์ทีเมีย

เสริมคุณค่าทางอาหารในอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยทุกวันด้วยแพลงก์ตอนพืชผสมกัน 2 ชนิดสลับกันระหว่างเตตราเซลมิส (*T. gracilis*) กับนาโนโครอพซิส (*N. oculata*) หรือระหว่างเตตราเซลมิส (*T. gracilis*) กับไอโซโคลซิส (*Isochrysis galbana*) เป็นระยะเวลาประมาณ 1-3 ชั่วโมง

นำอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มที่ฟักไว้ในถังไฟเบอร์และกินสไปรูไลนาเป็นอาหาร มาเสริมสารอาหารด้วย แพลงก์ตอนพืชผสมกัน 2 ชนิดสลับกันทุกวันระหว่างเตตราเซลมิส (*T. gracilis*) กับนาโนโครอพซิส (*N. oculata*) หรือระหว่างเตตราเซลมิส (*T. gracilis*) กับไอโซโคลซิส (*Isochrysis galbana*) ในอัตราความหนาแน่นเซลล์เตตราเซลมิส (*T. gracilis*) เฉลี่ยประมาณ  $3.5 \times 10^5 - 5.0 \times 10^5$  เซลล์/มิลลิลิตร อัตราความหนาแน่นเซลล์นาโนโครอพซิส (*N. oculata*) เฉลี่ยประมาณ  $1.6 \times 10^6 - 3.6 \times 10^6$  เซลล์/ มิลลิลิตร และอัตราความหนาแน่นเซลล์ไอโซโคลซิส (*Isochrysis galbana*) เฉลี่ยประมาณ  $2.3 \times 10^6 - 2.4 \times 10^6$  เซลล์/ มิลลิลิตร โดยในการทดลองที่ 1 เสริมคุณค่าทางอาหารในอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยเป็นระยะเวลาประมาณ 1-3 ชั่วโมง

การเสริมสารอาหารในอาร์ทีเมียแรกฟัก ทำการเสริมสารอาหารโดยการเลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืชผสม 2 ชนิดเช่นเดียวกับอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย ระหว่างเตตราเซลมิส (*T. gracilis*) และนาโนโครอพซิส (*N. oculata*) หรือระหว่างเตตราเซลมิส (*T. gracilis*) และไอโซโคลซิส (*I. galbana*) ในอัตราความหนาแน่นเดียวกันกับการเสริมคุณค่าทางอาหารในอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยดังกล่าวไว้ด้านบน

#### การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารในอาร์ทีเมีย

ทำการสุ่มตัวอย่างอาร์ทีเมียแรกฟัก อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มเลี้ยง อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์และกินสไปรูไลนาตลอดเวลาและอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่เสริมสารอาหารด้วยแพลงก์

ตอนที่ผสมกัน 2 ชนิดไปวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารอย่างหยาบ (proximate analysis) และวิเคราะห์กรดไขมัน

## การทดลองที่ 2 การเตรียมอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยและอาหารเม็ดชนิดจมน้ำ

### อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย

วิธีการเตรียมและการเสริมสารอาหารในอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่ใช้ในการทดลองปีที่ 2 ใช้วิธีการเดียวกับที่ใช้ในการทดลองที่ 1 แต่ในการทดลองที่ 2 ให้อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยกินแพลงก์ตอนที่ผสมกัน 2 ชนิด เป็นระยะเวลาประมาณ 18 -24 ชั่วโมง

### อาหารเม็ดชนิดจมน้ำ

ก่อนการผลิตอาหารเม็ดชนิดจมน้ำ ทำการทดสอบการยอมรับชนิดวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดของปลาแมนดารินเขียวในระยะเวลา 20 นาที ซึ่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ทดสอบได้แก่ ไชครอป ยีสต์ ปลาป่น ปลาหมึกป่น และ *Schizochrytium* sp.ผง (ดีเอชเอโกลด์ บริษัทมารีนรีดเดอร์) เป็นต้น พบว่าปลาแมนดารินเขียวยอมรับวัตถุดิบอาหารทุกชนิดยกเว้น *Schizochrytium* sp.ผง ในการทดลองที่ 2 ทำการผลิตอาหารเม็ดชนิดจมน้ำที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตรและมีความยาวประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ชนิดวัตถุดิบอาหารสัตว์และคุณค่าทางอาหารที่ใช้เป็นอาหารทดลองที่ 2 แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ในอาหารทดลอง

วัตถุดิบอาหาร	กิโลกรัม
ปลาป่น	300
เคย	180
ไชครอป	200
ยีสต์	70
หมึกป่น	140
วีท กลูเต็น	10
อัลฟา สตาร์ท ( $\alpha$ starch)	40
วิตามินรวม	10
แร่ธาตุรวม	10
น้ำมันปลา	40

ตารางที่ 2 คุณค่าทางอาหารอย่างหยาบ (% proximate analysis) ของอาหารทดลอง

คุณค่าทางอาหาร (%น้ำหนักแห้ง)	เปอร์เซ็นต์
ความชื้น	21.4 ± 0.4
โปรตีน	52.6 ± 0.2
ไขมัน	15.0 ± 0.1
เถ้า	13.2 ± 0.0
คาร์โบไฮเดรต (NFE+ไฟเบอร์)	19.2 ± 0.2

**การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร (proximate analysis)** วิเคราะห์ตาม AOAC, 2000 ประกอบกับคู่มือการวิเคราะห์ของเครื่องมือวิเคราะห์แต่ละชนิด ซึ่งวิธีการวิเคราะห์โดยย่อมีดังนี้

**การวิเคราะห์ความชื้น (% moisture content) และน้ำหนักรีดแห้ง (dry matter)**

ซึ่งตัวอย่างที่บดละเอียดประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในถ้วย crucible ที่อบแห้งและทราบน้ำหนักแล้ว ทำการอบตัวอย่างในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

การคำนวณปริมาณความชื้น (%) =  $(W1 - W2) \times (100) / \text{น้ำหนักตัวอย่าง}$

W1 คือ น้ำหนักถ้วยและตัวอย่างก่อนใส่ในตู้อบ

W2 คือ น้ำหนักถ้วยและตัวอย่างหลังอบแห้ง

การคำนวณปริมาณน้ำหนักรีดแห้ง (%) =  $100 - (\% \text{ ความชื้น})$

**การวิเคราะห์โปรตีน (Crude protein, CP)** (Tecator Kjeltac TM 2300 analyser, Foss, Warrington, UK.) เป็นการวิเคราะห์โปรตีนจากปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง คำนวณจากปริมาณไนโตรเจนมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 16% กระบวนการวิเคราะห์ประกอบด้วยขั้นตอนการย่อยและขั้นตอนการกลั่น

**ขั้นตอนการย่อยตัวอย่าง (ทำในตู้ดูดควัน)**

ใส่ตัวอย่างอาหารน้ำหนักประมาณ 0.2 กรัมและใส่ Kjeldahl catalyst tablets 2 เม็ดลงในหลอดย่อยตัวอย่าง ใส่กรดซัลฟูริกเข้มข้น 12 – 15 มล/หลอดย่อยตัวอย่าง ทำการย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิที่ 420°C ประมาณ 45 นาที จนกระทั่งตัวอย่างใส ตั้งพักไว้ในตู้ดูดควันให้อุณหภูมิในหลอดย่อยอาหารลดลงใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง

**ขั้นตอนการกลั่นตัวอย่าง**

เปิดเครื่องทำน้ำเย็นที่มีอุณหภูมิประมาณ 4 - 6 °C ที่ต่อเชื่อมกับเครื่องกลั่น ทำการอุ่นเครื่องกลั่นโดยการนำหลอดย่อยตัวอย่างที่มีปริมาตรน้ำ 70 มล มาใส่ในที่รองรับบนเครื่องกลั่นและต้มให้เดือดรองรับน้ำที่กลั่นได้ด้วยพลาสติกคลุมจนกระทั่งได้ปริมาตร 150 มล. หลังจากนั้นทำการกลั่นตัวอย่างโดยการนำหลอดตัวอย่างมาใส่ในที่รองรับบนเครื่องกลั่น เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40% ปริมาตร 70 มล ลงในหลอดย่อยตัวอย่างและจึงทำการต้มและกลั่น รองรับน้ำที่กลั่นได้ด้วยพลาสติกคลุมจนกระทั่งจุ่มบอริกเข้มข้น 4% ปริมาตร 25 มล. กลั่นให้ได้ปริมาตรประมาณ 150 มล. หลังจากนั้นนำไปไตเตรทด้วยไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล จนได้จุดยุติ และบันทึก ปริมาณ HCl เพื่อหาปริมาณไนโตรเจน

การคำนวณปริมาณไนโตรเจน(%) =  $14.01 \times (V1 - V2) \times N / \text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)} \times 10$

การคำนวณปริมาณโปรตีน (%) = % ไนโตรเจน  $\times 6.25$

โดย 14.01 คือ น้ำหนักมวโมเลกุลของไนโตรเจน

V1 คือ ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (ml)

V2 คือ ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทblank (ml)

N คือ ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ไตเตรท (N)

10 คือ ค่าคงที่สำหรับแปลงเป็นค่า %



### การวิเคราะห์ไขมัน (Crude lipid, CL)

ซึ่งตัวอย่างที่หาความชื้นแล้วประมาณ 1 กรัม ใส่บนกระดาษกรองและนำไปใส่ลงในทิมเบล หลังจากนั้น นำทิมเบลใส่ใน Extraction Unit of Soxhlet ซึ่งเชื่อมต่อกับ 1046 Service Unit เต็มปิโตรเลียม อีเทอร์ 50 มิลลิลิตรลงใน extraction cup ที่ทราบน้ำหนักแล้วก่อนนำไปประกอบเข้ากับเครื่อง Soxhlet ทำการสกัดไขมันประมาณ 1-2 ชั่วโมงตามคู่มือวิธีการสกัดของเครื่องสกัดไขมัน (Soxhtec, Foss, Warrington, UK) นำ Extraction cup และไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 103 นาน 30 นาทีและบันทึก น้ำหนัก

การคำนวณปริมาณไขมัน (%) =  $(W3 - W2) \times 100 / W1$

W1 คือน้ำหนักตัวอย่าง W2 คือน้ำหนักพลาสติก W3 คือน้ำหนักพลาสติก + น้ำหนักไขมัน

### การวิเคราะห์เถ้า (Ash)

อบแห้งด้วยกระเบื้องที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมงและชั่งน้ำหนักไว้ ซึ่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ลงในถ้วยที่ทราบน้ำหนักแล้วและนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C เป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง

การคำนวณปริมาณเถ้า (%) =  $(W3 - W2) \times 100 / W1$

W1 คือน้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

W2 คือน้ำหนักถ้วย

W3 คือน้ำหนักถ้วย + น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

### การวิเคราะห์หาคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ (Nitrogen free extract, NFE)

% NFE =  $100 - (\%CP + \%CL + \%Ash)$

การวิเคราะห์กรดไขมัน ดัดแปลงวิธีวิเคราะห์ของ Folch, 1957 และตรวจวัดชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่อง gas liquid chromatography (Christie, 1993)

ขั้นตอนการสกัดไขมันในตัวอย่าง

ซึ่งตัวอย่างอาหารบดละเอียดประมาณ 1 กรัม ลงในหลอดแก้วสำหรับปั่นเหวี่ยง และใส่สารละลาย คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (2:1) ที่มีสารกันหืน (BHT) 0.01% (สัดส่วนสารละลาย:ตัวอย่างประมาณ 20:1) หลังจากนั้นนำหลอดแก้วดังกล่าวมาปั่นตัวอย่างให้ละเอียดด้วยเครื่อง homogeniser ประมาณ 5 นาที นำหลอดตัวอย่างไปแช่ไว้ในน้ำแข็งประมาณ 1 ชั่วโมง เต็มสารละลายไปแช่สเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.88% ปริมาตร 1/4 ส่วนของปริมาตรสารละลายลงในตัวอย่าง เขย่าและตั้งไว้ให้แยกชั้นในน้ำแข็งประมาณ 5 นาที นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2500 rpm ประมาณ 5 นาที ปิดสารละลายชั้นบนทิ้ง กรองสารละลายส่วนล่างผ่านกระดาษกรอง Whatman no. 1 ลงในหลอดแก้วที่ทราบน้ำหนัก นำหลอดแก้วไประเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจนในตู้ดูดควันและนำไปใส่โหลดูดความชื้นประมาณ 1 ชั่วโมงก่อนชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่ได้เป็นปริมาณไขมันทั้งหมด ละลายไขมันที่ได้ด้วยสารละลายคลอโรฟอร์ม:เมทานอล (2:1) ที่มีสารกันหืน (BHT) 0.01%

ให้มีความเข้มข้น 10 มก/มล (10,000 พีพีเอ็ม) เก็บสารละลายไว้ในขวดแก้วสีน้ำตาลขนาด 2 มล ที่อุณหภูมิ -40°C

ขั้นตอนการทำ transesterification

ปิเปตไขมันปริมาตร 0.1 มล. (ความเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม) ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาเกลียวขนาด 15 มล. และระเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน เดิมสารละลาย 1% กรดซัลฟูริกในเมทานอลปริมาตร 10 มล. (methylation reagent) ปริมาตร 1 มล (ความเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม) ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน และนำไปใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลาประมาณ 16 ชั่วโมงหลังจากนั้นนำตัวอย่างออกจากตู้อบและตั้งทิ้งให้เย็นก่อนถ่ายใส่กรวยแก้วสำหรับสกัดและแยกสาร ชะสารที่ตกค้างในหลอดทดลองด้วย 5% โซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 5 มล และเทลงในกรวยแก้วเดิม เดิมเฮกเซนปริมาตร 5 มล. ลงในกรวยแก้วและเขย่าประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น เก็บชั้นเฮกเซนไว้ในกรวยแก้วใหม่ ทำการสกัดตัวอย่างในกรวยแก้วเดิมซ้ำอีกครั้งด้วยเฮกเซนปริมาตร 5 มล. ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น รวมสารละลายชั้นเฮกเซนไว้ด้วยกัน หลังจากนั้นเติมสารละลาย 2% โปตัสเซียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตปริมาตร 40 มล. เขย่าประมาณ 1 นาทีและตั้งไว้ให้แยกชั้น เก็บส่วนของเฮกเซน (ชั้นบน) โดยการกรองผ่านกรวยกรองที่บรรจุโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ (sodium sulfate anhydrous) ลงในหลอดแก้ว นำสารที่ได้ไประเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน เดิมเฮกเซนปริมาตร 1 มล. ลงในขวดแก้ว ปิเปตสารละลายลงในขวดสีน้ำตาลขนาด 2 มล หลังจากนั้น นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันหรือเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอการนำไปฉีดเข้าเครื่อง gas liquid chromatography (Agilent Technologies GC 7820A, USA).

สภาวะที่ใช้ในการการจำแนกและการตรวจวัดชนิดและปริมาณกรดไขมันมีดังนี้

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ( GC Agilent Technologies 7820A)	
คอลัมน์	Column HP-Innowax Agilent J&W ขนาด 30 m. x 0.25 mm. x 0.25 $\mu$ m. (length x id x film thickness)
แก๊สเคลื่อนที่	แก๊สฮีเลียม อัตราการไหล 1.2 มล/นาที
อุณหภูมิเตาอบ	150 °C คงไว้ 0.5 min 150 °C $\longrightarrow$ 170 °C (10 min, 5° C/min) 170 °C $\longrightarrow$ 190 °C (28 min, 3° C/min)
อุณหภูมิช่องฉีดสาร	230 °C
อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด	250 °C
เครื่องตรวจวัด	ชนิด Flame Ionisation Detector (FID)
ชนิดการฉีด	split 5:1
ปริมาตรฉีด	1 $\mu$ l

จำแนกและตรวจวัดชนิดกรดไขมันโดยการเปรียบเทียบเวลาของพีคสารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์ กับเวลาของพีคสารมาตรฐานกรดไขมันแต่ละชนิด ((Supelco 37-Component FAME Mix, Supelco, USA) ก่อนนำไปคำนวณหาปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดจากพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่าง

### การตรวจคุณภาพน้ำ

ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำในตู้ทดลองพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียว พารามิเตอร์ที่ตรวจวัด ทุกวัน ได้แก่ อุณหภูมิ (Hach-senION2) และความเค็ม (Salino-refractometer ATAGO รุ่น S/mill-E) พารามิเตอร์ที่ตรวจวัดทุก 2 สัปดาห์ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Hach-senION6) ความเป็นกรด-ด่าง (Hach รุ่น sen Ion2) ความเป็นด่าง (Alkalinity) (APHA, 1980) ปริมาณแอมโมเนียรวม (Solórzana, 1969) และไนโตรเจน-ไนโตรเจน (Strickland and Parson, 1972)

### วิธีการทดลอง

ทั้งสองการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (4x3 Completely randomised design) ประกอบด้วย 4 ชุดการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ ให้ปลากินอาหารวันละ 2 ครั้ง

การทดลองที่ 1 ชุดการทดลองมีดังนี้

ชุดทดลองที่ 1 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง

ชุดทดลองที่ 2 ให้กินอาร์ทีเมียแรกฟัก 0.5 ตัว/มล/ครั้ง

ชุดทดลองที่ 3 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ลิตร/ครั้งและอาร์ทีเมียแรกฟัก0.5 ตัว/มล/ครั้ง

ชุดทดลองที่ 4 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1 ตัว/ลิตร/ครั้งและอาร์ทีเมียแรกฟัก0.5ตัว/มล/ครั้ง

การทดลองที่ 2 ชุดการทดลองมีดังนี้

ชุดทดลองที่ 1 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง (ชุดควบคุม)

ชุดทดลองที่ 2 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ลิตร/ครั้ง

ชุดทดลองที่ 3 ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง

ชุดทดลองที่ 4 ให้กินอาหารเม็ดชนิดจมน้ำ (5 - 10% ของน้ำหนักตัวเริ่มต้นทดลอง)

การเก็บตัวอย่างศึกษาพัฒนาการอวัยวะทางเดินอาหารและระบบสืบพันธุ์โดยเทคนิคเนื้อเยื่อวิทยา

การทดลองที่ 1 การศึกษาพัฒนาการอวัยวะทางเดินอาหารของลูกปลาแมนดารินเขียว (F2)

เก็บตัวอย่างลูกปลาแมนดารินที่เกิดจากการทดลองที่ 1 (F2) อายุแรกเกิดและอายุ 7 วัน อย่างละ 6 ตัว โดยการแช่ลูกปลาในสารละลาย neutral formalin 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนนำลูกปลาไปแช่ในสารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์จนกระทั่งทำการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาโดยนำไปผ่านกระบวนการทางพาราฟินเทคนิค โดยกระบวนการทั้งหมดทำในขวด vial ขนาด 5 มิลลิลิตรและกระบวนการย้อมสี harris hematoxylin and eosin (Howard and Smith, 1983)

การทดลองที่ 2 การศึกษาพัฒนาการระบบสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียว (F1)

หลังจากอนุบาลลูกปลาแมนดารินเขียว (F1) ชุดเดียวกับลูกปลาแมนดารินเขียวที่ใช้ในการทดลองที่ 2 และลูกปลาแมนดารินเขียวที่เกิดในเดือนใกล้เคียงกับที่ใช้ในการทดลองที่ 2 ในตู้กระจกขนาด 30 ลิตรที่ต่อเชื่อมกับระบบกรองของโรงเพาะฟักจนกระทั่งลูกปลาแมนดารินเขียวมีอายุ 6 เดือน ทำการเก็บ

ตัวอย่างปลาแมนดารินเขียว (F1) เพศผู้และเพศเมียจำนวน 1 คู่เมื่อปลาแมนดารินเขียวอายุ 12 เดือน 15 เดือน 17 เดือน 19 เดือน 20 เดือนและ 24 เดือน นอกจากนี้ ได้การเก็บตัวอย่างปลาแมนดารินเขียวเพศเมียเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 2 อายุ 32 เดือนจำนวน 3 ตัวด้วย ทำการแช่ตัวอย่างปลาแมนดารินเขียวในสารละลาย neutral formalin 10% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากนั้นนำตัวอย่างปลาแมนดารินเขียวมาแช่ใน 70% แอลกอฮอล์จนกระทั่งนำตัวอย่างไปผ่านกระบวนการทางพาราฟินเทคนิค ตัดเนื้อเยื่อลูกปลาแมนดารินเขียวด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ (rotary microtome) ที่ความหนา 3 ไมครอนและตัดเนื้อเยื่อด้วยสไลด์ที่ความหนา 5 ไมครอน นำแผ่นเนื้อเยื่อที่ตัดลอยน้ำใน water bath เพื่อให้ตัวอย่างยึดตัวก่อนนำมาติดบนสไลด์ที่ทำด้วยไขขาวและย้อมด้วยสี harris hematoxylin and eosin (ดัดแปลง Howard and Smith, 1983) สไลด์ที่ผ่านกระบวนการย้อมสีแล้ว ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง ปิดด้วย cover glass โดยใช้สารละลาย permouth ก่อนนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์หรือนำไปผ่านด้วย slide scanner และศึกษาพัฒนาการของเนื้อเยื่อด้วยโปรแกรม Aperio Image Scope V12.2.2.5015

ตารางที่ 3 ขั้นตอนกระบวนการทางพาราฟินเทคนิค มีวิธีการดังนี้

ขั้นตอนที่	วิธีการปฏิบัติ	ระยะเวลา	
		ลูกปลา	อวัยวะสืบพันธุ์
1	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
2	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
3	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
4	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
5	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
6	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
7	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
8	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
9	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
10	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
11	แช่ตัวอย่างในสารละลาย 50% paraplast 50% xylene	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
12	แช่ตัวอย่างใน paraplast	½ ชั่วโมง	1 ชั่วโมง
13	แช่ตัวอย่างใน paraplast	-	1 ชั่วโมง
14	แช่ตัวอย่างใน paraplast (embedge)	24 ชั่วโมง	-
	แช่ตัวอย่างใน paraplast (embedge)	-	24 ชั่วโมง

ตารางที่ 4 ขั้นตอนการย้อมสีลูกปลาแมนดารินเขียว มีวิธีการดังนี้

ขั้นตอนที่	วิธีการปฏิบัติ	ระยะเวลา
1	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene substitute	5 นาที
2	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene substitute	5 นาที
-	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	5 นาที
4	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	3 นาที
5	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	3 นาที
6	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	3 นาที
7	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 30 เปอร์เซ็นต์	2 นาที
8	แช่ตัวอย่างในน้ำกลั่น	2 นาที
9	แช่ตัวอย่างในสีย้อม harris hematoxylin	15 นาที
10	แช่ตัวอย่างในน้ำกลั่น	2 นาที
11	แช่ตัวอย่างใน acid alcohol	10 วินาที
12	แช่ตัวอย่างในน้ำประปา	5 นาที
13	แช่ตัวอย่างในน้ำกลั่น	3 นาที
14	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	3 นาที
15	แช่ตัวอย่างในสีย้อม eosin	30 วินาที
16	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	10 วินาที
17	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	10 วินาที
18	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	10 วินาที
19	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene	3 นาที
20	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene	5 นาที

ตารางที่ 5 ขั้นตอนการย้อมสีย้อมอะลูมิเนียมสีบัพันธ์ปลาแมนดารินเขียว มีวิธีการดังนี้

ขั้นตอนที่	วิธีการปฏิบัติ	ระยะเวลา
1	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene substitute	5 นาที
2	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene substitute	5 นาที
3	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene substitute	5 นาที
4	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	5 นาที
5	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	5 นาที
6	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	5 นาที
7	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	5 นาที
8	แช่ตัวอย่างในน้ำกลั่น	30 วินาที
9	แช่ตัวอย่างในสีย้อม harris hematoxylin	2 นาที
10	แช่ตัวอย่างในน้ำกลั่น	10 นาที
11	แช่ตัวอย่างใน acid alcohol	45 วินาที
12	แช่ตัวอย่างในน้ำประปา	45 วินาที
13	แช่ตัวอย่างใน Scott's solution	1 นาที
14	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	30 วินาที
15	แช่ตัวอย่างในสีย้อม eosin	3 นาที
16	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	30 วินาที
17	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	30 วินาที
18	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	30 วินาที
19	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	3 นาที
20	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	3 นาที
21	แช่ตัวอย่างในสารละลายแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	3 นาที
22	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene	3 นาที
23	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene	3 นาที
24	แช่ตัวอย่างในสารละลาย xylene	3 นาที

## การคำนวณการเจริญเติบโตและการวิเคราะห์ทางสถิติ

น้ำหนักเพิ่มขึ้น/ตัว = น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง/น้ำหนักเริ่มต้นการทดลอง

ความยาวเพิ่มขึ้น/ตัว = ความยาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง/ความยาวเริ่มต้นการทดลอง

น้ำหนักเพิ่มขึ้น/กรัมน้ำหนักตัว = น้ำหนักเพิ่มขึ้น/น้ำหนักตัว (กรัม)

ความยาวเพิ่มขึ้น/กรัมน้ำหนักตัว = ความยาวเพิ่มขึ้น/น้ำหนักตัว (กรัม)

เปอร์เซ็นต์ไข่ดี = จำนวนไข่ที่มีลักษณะใสลอยน้ำ  $\times 100$  / จำนวนไข่ทั้งหมด

เปอร์เซ็นต์ไข่เสีย = จำนวนไข่ที่มีลักษณะขาวขุ่นจมน้ำ  $\times 100$  / จำนวนไข่ทั้งหมด

วิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลทางสถิติแบบทางเดียว (one way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลอง (post hoc tests) โดยวิธี duncan

### ระยะเวลาทดลอง

การทดลองที่ 1 ทำการอนุบาลลูกปลาแมนดารินเขียวจนกระทั่งปลาแมนดารินเขียวอายุ 1 ปี 2 เดือน (14 เดือน) ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 8 เดือน (มกราคม 2557 ถึง กันยายน 2557)

การทดลองที่ 2 ทำการอนุบาลลูกปลาแมนดารินเขียวจนกระทั่งปลาแมนดารินเขียวอายุ 1 ปี 3 เดือน (15 เดือน) ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 1 ปี 6 เดือน (มกราคม 2558 ถึง มิถุนายน 2559)

### สถานที่ทำการทดลอง

โรงเรียนสัตตการเพาะเลี้ยงและห้องปฏิบัติการ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี

## ผลการวิจัย

### การทดลองที่ 1 ผลของขนาดและความหนาแน่นของอาร์ทีเมียต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตไข่ของปลาแมนดารินเขียว

#### คุณค่าทางอาหารของอาร์ทีเมียที่เสริมสารอาหารด้วยแพลงก์ตอนพืช

คุณค่าทางอาหารของอาร์ทีเมียแรกฟักที่ใช้ในการทดลองนี้มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูงกว่าอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยและมีปริมาณเถ้าและและคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ (NFE) น้อยกว่าในอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 6) คุณค่าทางอาหารของอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชต่างชนิดกันมีปริมาณโปรตีนและไขมันระหว่าง 48-52% และ 7-8% ตามลำดับ (ตารางที่ 6) โดยอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *N. oculata* มีปริมาณโปรตีนสูงสุด (มากกว่า 50%) และแตกต่างจากอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 6) นอกจากนี้ อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *N. oculata* มีปริมาณไขมันสูงกว่าอาร์ทีเมียจากฟาร์มเลี้ยงและสูงกว่าอาร์ทีเมียที่กินสไปรูลินาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *N. oculata* และอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *I. galbana* มีปริมาณไขมันสูงไม่แตกต่างกัน (7-8%) แต่อาร์ทีเมียที่กินอาหารเหล่านี้มีปริมาณไขมันสูงกว่าอาร์ทีเมียจากฟาร์มเลี้ยง (6%) และอาร์ทีเมียที่กินสไปรูลินา (3%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 คุณค่าทางอาหารของอาร์ทีเมียแรกฟัก อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์ม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินสไปรูลินา อาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *Tetraselmis gracilis* และ *Nanochoropsis oculata* หรือระหว่าง *T. gracilis* และไอโซโคลซิส *Isochrysis galbana* เป็นเวลา 1-3 ชั่วโมง

คุณค่าทางอาหาร	อาร์ทีเมียแรกฟัก	อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย (จากฟาร์ม)	อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชชนิดต่างๆ		
			<i>Spirulina</i> sp.	<i>T. gracilis</i> + <i>N. oculata</i>	<i>T. gracilis</i> + <i>I. galbana</i>
โปรตีน	65.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	47.7 ± 0.2 <sup>cd</sup>	48.2 ± 0.6 <sup>c</sup>	52.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	47.2 ± 0.1 <sup>d</sup>
ไขมัน	14.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	6.6 ± 0.2 <sup>c</sup>	3.4 ± 0.4 <sup>d</sup>	7.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.9 ± 0.1 <sup>b</sup>
เถ้า	10.7 ± 0.2 <sup>e</sup>	20.6 ± 0.3 <sup>a</sup>	11.3 ± 0.4 <sup>d</sup>	13.1 ± 0.3 <sup>c</sup>	18.5 ± 0.2 <sup>b</sup>
NFE + ไฟเบอร์	11.0 ± 0.1 <sup>d</sup>	25.1 ± 0.3 <sup>c</sup>	37.0 ± 0.9 <sup>a</sup>	26.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	26.4 ± 0.2 <sup>b</sup>

NFE= nitrogen free extract

ในตารางที่ 7 แสดงองค์ประกอบกรดไขมันในอาร์ทีเมียแรกฟัก ในอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มเลี้ยง และในอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่เสริมสารอาหารด้วยการให้กินแพลงก์ตอนพืชผสมกัน 2 ชนิด. อาร์ทีเมียแรกฟักมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงคู่ (polyunsaturated fatty acid, PUFA) กลุ่มโอเมกา3 และ6 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นกลุ่มโอเมกา 3 (n-3 polyunsaturated fatty acid, PUFA) สูงกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acids (MUFAs) และกรดไขมันอิ่มตัว (saturated FAs). ในการทดลองนี้ อาร์ทีเมียจากฟาร์มอาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมกันระหว่าง



*Tetraselmis gracilis* และ *Nannochloropsis oculata* มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นที่มีขนาดโซ่ยาวกลุ่มโอเมกา 3 ประมาณ 3% (n-3 highly unsaturated fatty acid) และในกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นที่มีขนาดโซ่ยาวกลุ่มโอเมกา 3 นี้มีกรดไขมันชนิดอีพีเอ eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) เป็นองค์ประกอบหลัก แต่อาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *Isochrysis galbana* มีปริมาณกรดไขมันอีพีเอปริมาณน้อยกว่าอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มและอาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมกันระหว่าง *T. gracilis* และ *N. oculata*.

ตารางที่ 7 องค์ประกอบกรดไขมัน (% ของกรดไขมันทั้งหมด) ในอาร์ทีเมียแรกฟัก อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์มและอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมกัน 2 ชนิด

กรดไขมัน	อาร์ทีเมียแรกฟัก	อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจากฟาร์ม	อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่กินแพลงก์ตอนพืช		
			สไปรูไลนา ( <i>Spirulina</i> sp.)	<i>T. gracilis</i> + <i>N. oculata</i>	<i>T. gracilis</i> + <i>I. galbana</i>
C14:0	0.62 ± 0.04 <sup>d</sup>	1.34 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.83 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.34 ± 0.07 <sup>b</sup>	2.08 ± 0.03 <sup>a</sup>
C16:0	10.05 ± 0.39 <sup>c</sup>	14.14 ± 0.20 <sup>b</sup>	14.39 ± 0.70 <sup>b</sup>	15.0 ± 0.23 <sup>b</sup>	16.36 ± 0.63 <sup>a</sup>
C18:0	4.92 ± 0.18 <sup>c</sup>	5.48 ± 0.03 <sup>cb</sup>	7.82 ± 0.64 <sup>a</sup>	6.25 ± 0.80 <sup>b</sup>	6.18 ± 0.23 <sup>b</sup>
C16:1n7	1.87 ± 0.07 <sup>d</sup>	0.15 ± 0.02 <sup>e</sup>	2.40 ± 0.14 <sup>c</sup>	4.59 ± 0.31 <sup>a</sup>	3.92 ± 0.12 <sup>b</sup>
C18:1n9	22.08 ± 0.51 <sup>b</sup>	22.65 ± 0.15 <sup>b</sup>	21.55 ± 0.78 <sup>b</sup>	25.40 ± 0.71 <sup>a</sup>	22.52 ± 0.73 <sup>b</sup>
C20:1n9	0.70 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.06 <sup>b</sup>	nd	nd	nd
C18:2n6	4.25 ± 0.22 <sup>e</sup>	12.46 ± 0.15 <sup>a</sup>	9.79 ± 0.73 <sup>c</sup>	7.62 ± 0.62 <sup>d</sup>	11.00 ± 0.20 <sup>b</sup>
C18:3n6	0.36 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.22 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.38 ± 0.20 <sup>a</sup>	0.37 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.06 <sup>a</sup>
C18:3n3	26.83 ± 0.89 <sup>a</sup>	8.32 ± 0.08 <sup>c</sup>	11.25 ± 0.48 <sup>b</sup>	7.87 ± 0.68 <sup>c</sup>	8.39 ± 0.27 <sup>c</sup>
C20:4n6	nd	1.76 ± 0.04 <sup>a</sup>	nd	1.13 ± 0.17 <sup>b</sup>	1.11 ± 0.05 <sup>b</sup>
C20:5n3	1.34 ± 0.05 <sup>c</sup>	3.23 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.41 ± 0.11 <sup>c</sup>	3.16 ± 0.49 <sup>a</sup>	1.97 ± 0.15 <sup>b</sup>
C22:6n3	nd	nd	nd	nd	nd
Others	26.96 ± 2.17	29.70 ± 0.40	28.16 ± 2.74	27.27 ± 2.09	26.16 ± 1.22
SFA	15.36 ± 0.58 <sup>c</sup>	19.62 ± 0.23 <sup>b</sup>	22.22 ± 1.34 <sup>a</sup>	21.25 ± 1.00 <sup>a</sup>	22.54 ± 0.81 <sup>a</sup>
MUFA	25.36 ± 0.52 <sup>c</sup>	23.35 ± 0.13 <sup>c</sup>	23.96 ± 0.92 <sup>c</sup>	29.99 ± 1.00 <sup>a</sup>	26.44 ± 0.84 <sup>b</sup>
PUFA	32.79 ± 1.13 <sup>a</sup>	25.99 ± 0.28 <sup>b</sup>	24.83 ± 1.03 <sup>bc</sup>	20.16 ± 1.92 <sup>d</sup>	22.78 ± 0.63 <sup>c</sup>
n-3PUFA	28.18 ± 0.90 <sup>a</sup>	11.55 ± 0.09 <sup>bc</sup>	12.66 ± 0.52 <sup>b</sup>	11.03 ± 1.16 <sup>c</sup>	10.36 ± 0.42 <sup>c</sup>
n-3HUFA	1.34 ± 0.05 <sup>c</sup>	3.23 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.41 ± 0.11 <sup>c</sup>	3.16 ± 0.49 <sup>a</sup>	1.97 ± 0.15 <sup>b</sup>

ข้อมูลแสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในอาร์ทีเมียยังมีปริมาณกรดไขมันชนิด C20:0, C22:0 และ C22:1n9 น้อยกว่า 0.4% (ไม่ได้แสดงไว้ในตาราง) nd = not detected.

### ขนาดและความหนาแน่นของอาร์ทีเมียต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตไข่ของปลาแมนดารินเขียว

เริ่มต้นการทดลองเมื่อปลาแมนดารินเขียวเพศผู้และเพศเมีย (F1) มีอายุ 1 ปี 2 เดือน (14 เดือน) โดยปลาเพศผู้มีน้ำหนักเฉลี่ย  $1.81 \pm 0.33$  กรัมและ ความยาวเฉลี่ย  $3.82 \pm 0.22$  เซนติเมตร และปลาเพศเมียมีน้ำหนักเฉลี่ย  $1.52 \pm 0.22$  กรัมและความยาวเฉลี่ย  $3.61 \pm 0.26$  เซนติเมตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองปลาแมนดารินเขียวมีอายุ 2 ปี ซึ่งปลาเพศผู้และปลาเพศเมียมีน้ำหนักเฉลี่ย  $3.38 \pm 0.83$  กรัมและ  $2.84 \pm 0.30$  กรัมและความยาวเฉลี่ย  $4.69 \pm 0.25$  และ  $4.34 \pm 0.39$  เซนติเมตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้พบว่าปลาแมนดารินเขียวจากทุกชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) แต่ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ทุกชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตดีกว่าปลาแมนดารินเขียวเพศเมีย (ตารางที่ 8) จากอัตราการให้อาหารปลาแมนดารินเขียวทุกชุดการทดลองจำนวน 2 ครั้งต่อวัน (เช้าและบ่าย) พบอาหารเหลือในตู้ก่อนให้อาหารครั้งที่ 2 โดยเฉพาะตู้ที่ให้อาร์ทีเมียขนาดเล็กมีอาหารเหลือมาก ในตู้ทดลองที่ให้กินอาร์ทีเมียผสมกัน 2 ขนาดพบว่าปลาแมนดารินเลือกกินอาร์ทีเมียขนาดใหญ่ก่อนอาร์ทีเมียขนาดเล็ก ในการทดลองนี้ทำการทดลอง 3 ชั่วโมงทุกชุดการทดลองซึ่งผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าปลาแมนดารินเขียวเพียง 1 คู่ ที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัวต่อลิตรจำนวน 2 ครั้งต่อวัน สามารถสืบพันธุ์ได้เมื่ออายุ 1 ปี 7 เดือน (19 เดือน) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้และเพศเมียคู่นี้มีน้ำหนักตัว 3.70 กรัมและ 3.0 กรัมและความยาวลำตัว 5.54 เซนติเมตรและ 5.39 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

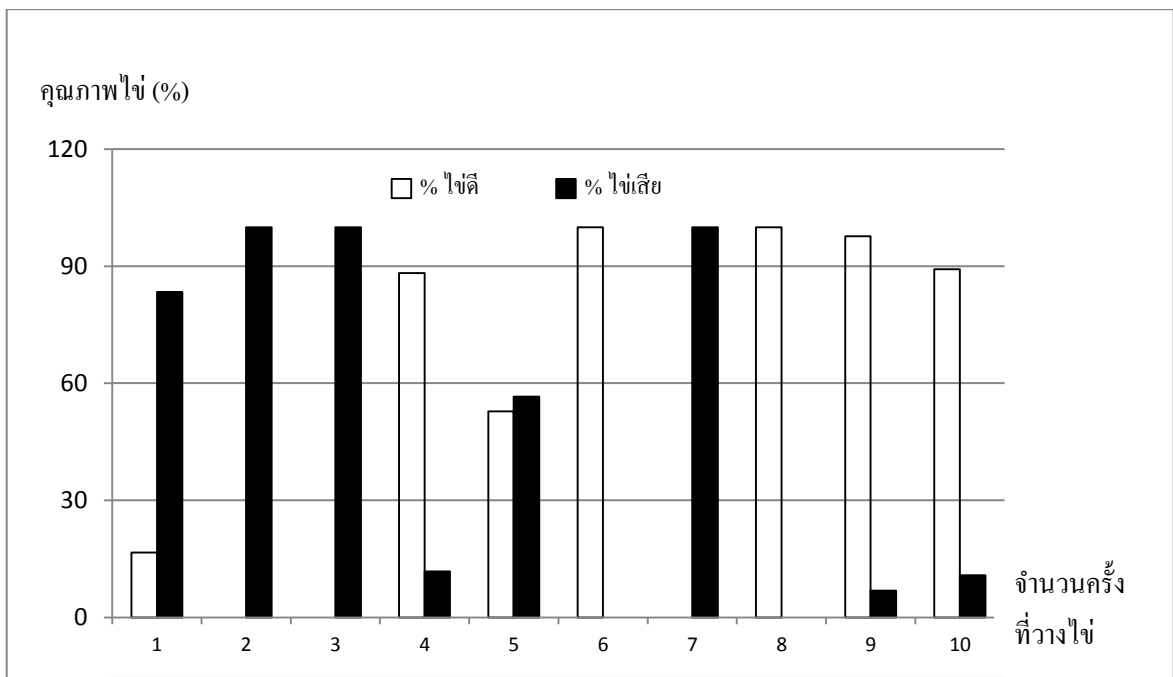
ปลาแมนดารินเขียวออกไข่ 10 ครั้งระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายน (ภาพที่ xx) และไข่ที่ออกในแต่ละครั้งมีจำนวนระหว่าง 48 ถึง 253 ใบ (จำนวนไข่เฉลี่ยประมาณ  $151.40 \pm 70.91$  ใบ) และไข่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ  $0.78 \pm 0.02$  มิลลิเมตร โดยปลาแมนดารินเขียวมีพฤติกรรมการออกไข่สองแบบคือออกไข่เพียงวันเดียวและเว้นระยะในการออกไข่หรือการออกไข่ติดต่อกันสองสามวันและเว้นระยะก่อนออกไข่ครั้งต่อไปประมาณ 1 ถึง 3 สัปดาห์ (ตารางที่ 9) โดยปลาแมนดารินเขียววางไข่ในระยะหลังๆมีจำนวนไข่และอัตราไข่ที่ได้รับการผสมพันธุ์ดีกว่าปลาแมนดารินที่ออกไข่ในระยะแรก ซึ่งในระยะ 3 ครั้งแรกของการสืบพันธุ์ ไข่ของปลาแมนดารินเขียวเป็นไข่เสีย (83-100%) มากกว่าไข่ดี (0-17%) เมื่อปลาออกไข่ในระยะต่อมาจะมีจำนวนไข่ดีเพิ่มขึ้นและมีเปอร์เซ็นต์ไข่ดีประมาณ 89 -100% (ตารางที่ 9 ภาพที่ 5) ก่อนสิ้นสุดการทดลอง 1 สัปดาห์ พบปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ตายตุ้ละ 1 ตัวในตู้ทดลองที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ลิตร:อาร์ทีเมียแรกฟัก 0.25 ตัว/มลและกินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1 ตัว/ลิตร:อาร์ทีเมียแรกฟัก 0.5 ตัว/มล นอกจากนี้ ในตู้ทดลองที่ให้กินอาร์ทีเมียขนาดเล็กและให้กินอาร์ทีเมียผสมกันสองขนาดมีดอกไม้ทะเลแก้วเกิดขึ้นในตู้จำนวนมาก (ภาพที่ 6) และดอกไม้ทะเลแก้วกินอาร์ทีเมียเป็นอาหารและรบกวนการเป็นอยู่ของปลาแมนดารินเขียว

ตารางที่ 8 การเจริญเติบโตของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้และเพศเมียที่ให้อาหารที่เมียดำเต็มวัย  
ในปริมาณต่างกัน

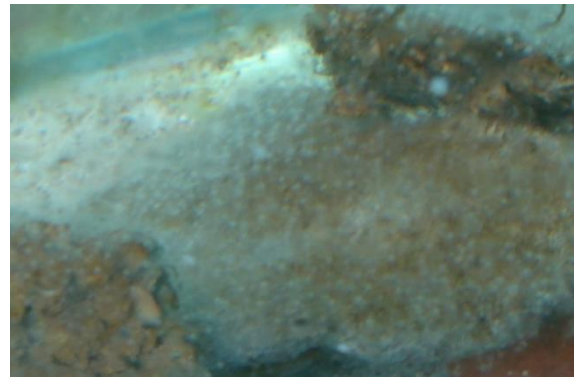
ชุดการทดลอง	อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร	อาร์ทีเมียแรกฟัก 0.5 ตัว/มล	อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย: แรกฟัก 2 ตัว/ลิตร: 0.25 ตัว/มล	อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย: แรกฟัก 1 ตัว/ลิตร: 0.5 ตัว/มล
เริ่มต้นการทดลอง				
น้ำหนัก				
เพศผู้	2.10 ± 0.50	1.75 ± 0.17	1.75 ± 0.02	1.63 ± 0.35
เพศเมีย	1.54 ± 0.37	1.62 ± 0.22	1.40 ± 0.19	1.53 ± 0.01
ความยาว				
เพศผู้	4.09 ± 0.24	3.81 ± 0.14	3.64 ± 0.06	3.73 ± 0.17
เพศเมีย	3.59 ± 0.25	3.73 ± 0.37	3.56 ± 0.06	3.57 ± 0.36
สิ้นสุดการทดลอง				
น้ำหนัก				
เพศผู้	3.45 ± 0.30	3.44 ± 0.70	3.69 ± 0.16	3.45 ± 0.22
เพศเมีย	2.41 ± 0.98	2.41 ± 0.45	2.67 ± 0.91	2.46 ± 0.08
ความยาว				
เพศผู้	5.60 ± 0.14	5.34 ± 0.16	5.63 ± 0.15	5.30 ± 0.42
เพศเมีย	5.05 ± 0.30	4.98 ± 0.60	5.08 ± 0.36	4.92 ± 0.16
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/ตัว				
เพศผู้	1.35 ± 0.47	1.69 ± 0.79	2.45 ± 0.86	1.99 ± 0.04
เพศเมีย	0.87 ± 0.74	0.79 ± 0.58	1.27 ± 0.79	0.94 ± 0.09
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/กรัม				
เพศผู้	0.39 ± 0.13	0.47 ± 0.14	0.53 ± 0.02	0.58 ± 0.05
เพศเมีย	0.44 ± 0.08	0.31 ± 0.17	0.45 ± 0.12	0.38 ± 0.02
ความยาวเพิ่มขึ้น/ตัว				
เพศผู้	1.52 ± 0.10	1.53 ± 0.30	2.01 ± 0.21	1.53 ± 0.65
เพศเมีย	1.46 ± 0.14	1.25 ± 0.81	1.52 ± 0.32	1.14 ± 0.22
ความยาวเพิ่มขึ้น/กรัม				
เพศผู้	0.44 ± 0.02	0.46 ± 0.17	0.49 ± 0.05	0.44 ± 0.16
เพศเมีย	0.55 ± 0.12	0.49 ± 0.23	0.60 ± 0.17	0.46 ± 0.07

ตารางที่ 9 ความถี่การออกไข่ ปริมาณและคุณภาพไข่ปลาแมนดารินเขียวที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย

วัน เดือน ปี	ปลาแมนดารินกินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3ตัว/ลิตร/ครั้ง		
	จำนวนไข่ทั้งหมด	จำนวนไข่พัฒนา	จำนวนไข่เสีย
13 มิถุนายน 2557	253	42	211
19 มิถุนายน 2557	62	0	62
8 กรกฎาคม 2557	151	0	151
18 กรกฎาคม 2557	170	150	20
19 กรกฎาคม 2557	106	56	60
29 กรกฎาคม 2557	229	229	0
30 กรกฎาคม 2557	48	0	48
1 สิงหาคม 2557	100	100	0
5 สิงหาคม 2557	219	214	15
28 สิงหาคม 2557	176	157	19



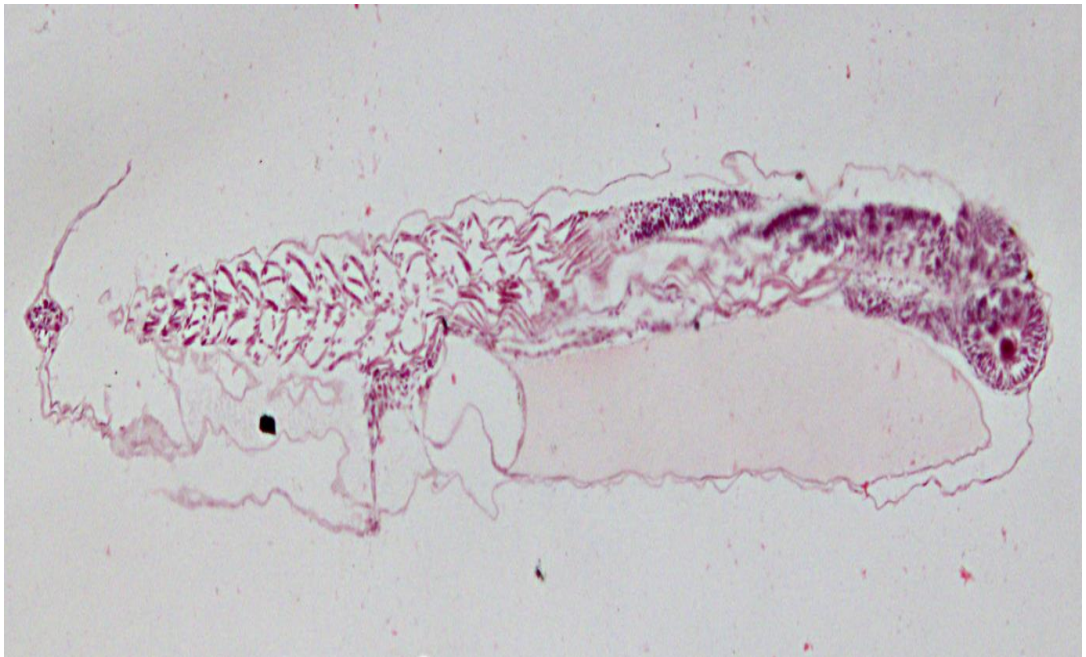
ภาพที่ 5 คุณภาพไข่ (%) ของปลาแมนดารินเขียวจากการผสมพันธุ์ออกไข่ 10 ครั้ง



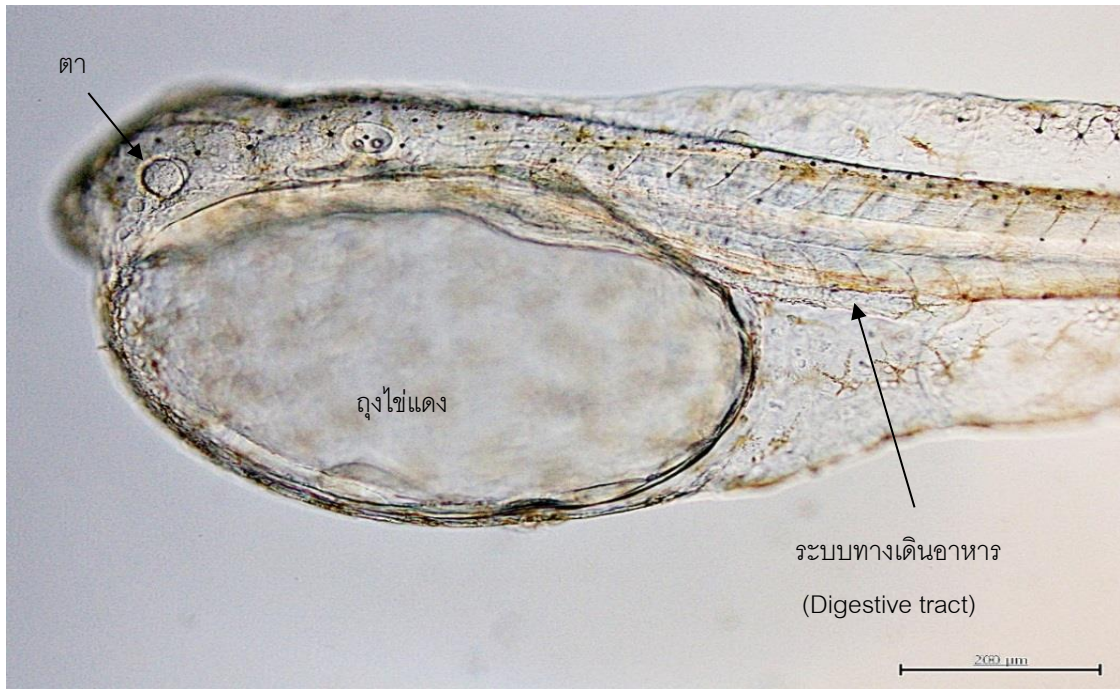
ภาพที่ 6 ดอกไม้ทะเลแก้วขนาดใหญ่ (ซ้าย) และขนาดเล็ก (ขวา) ที่ระบาดในตู้ทดลองที่ให้กินอาร์ทีเมียขนาดเล็กหรืออาร์ทีเมียผสม 2 ขนาด

### พัฒนาการของลูกปลาแมนดารินเขียวและอวัยวะระบบทางเดินอาหาร

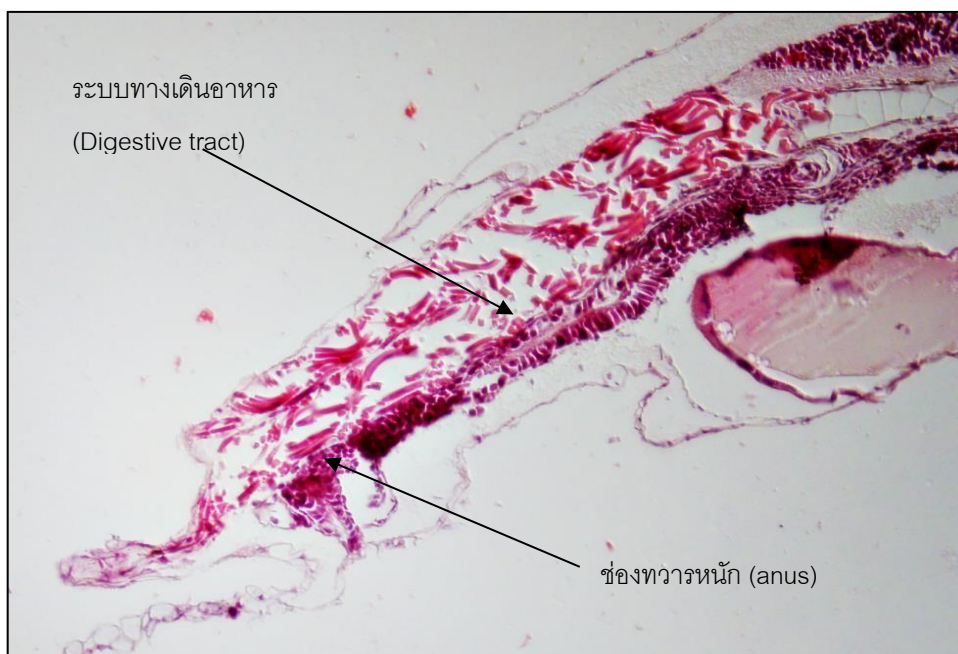
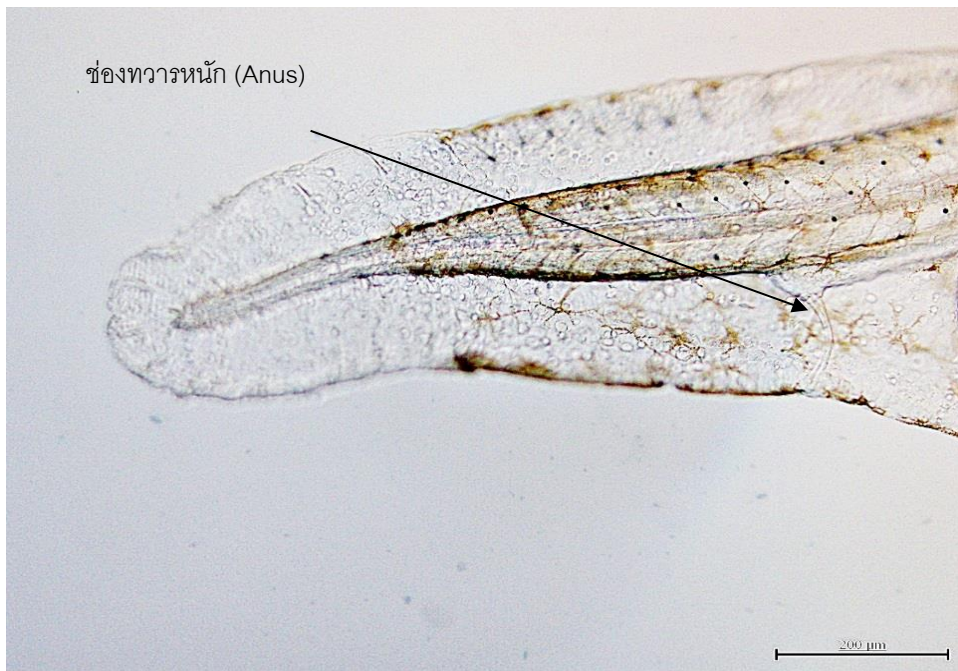
ไข่ปลาแมนดารินเขียวจากภานะเก็บไข่ลงในภานะสีดำ นับจำนวนไข่ทั้งหมด ไข่ดีและไข่เสีย ไข่ปลาแมนดารินเขียวเป็นไข่ลอยน้ำ ลักษณะไข่ดีที่มีพัฒนาการคือไข่ใสและลอยน้ำในขณะที่ไข่เสียมีสีขาวขุ่นและจมน้ำ ลูกปลาแมนดารินเขียวฟักเป็นตัวใช้เวลาประมาณ 16 ชม ลูกปลาแมนดารินเขียวแรกเกิดมีลำตัวใสและมีถุงไข่แดงขนาดใหญ่ ดวงตายังไม่มีสีและปากยังไม่พัฒนา บริเวณลำตัวมีเม็ดสีกระจายทั่วลำตัว ปลาแมนดารินอายุ 6 ชั่วโมงมีความยาวลำตัวทั้งหมด  $1.28 \pm 0.49$  มิลลิเมตร มีลำตัวใส มีเม็ดสีกระจายบริเวณส่วนหัวและบริเวณด้านบนและด้านล่างของโนโตคอด (ภาพที่ 7) ดวงตาและระบบทางเดินอาหารเป็นเพียงท่อตรงไปสู่ช่องทวารหนัก (ภาพที่ 8-9) พัฒนาการของลูกปลาแมนดารินอายุ 1 วันถึง 8 วัน แสดงในภาพที่ 10 ลูกปลาแมนดารินเขียวอายุ 1-2 วัน มีขนาดความยาวลำตัวเพิ่มขึ้น ขนาดถุงไข่แดงเล็กลงแต่มีลำตัวใสเช่นเดียวกับลูกปลาแรกเกิด ปากลูกปลาแมนดารินเปิดกว้างพร้อมกินอาหารจากภายนอกเมื่อลูกปลาอายุ 2-3 วัน (ภาพที่ 10) หลังจากนั้น ลูกปลาพัฒนาการเจริญเติบโตมากขึ้น มองเห็นดวงตาสีดำและครีบก้นชัดเจนและเมื่อเมื่อลูกปลาแมนดารินเขียวอายุ 7 และ 8 วัน มีความยาวเฉลี่ยประมาณ 2.5 มิลลิเมตร



ภาพที่ 7 ลูกปลาแมนดารินอายุ 6 ชั่วโมง ความยาว  $1.28 \pm 0.49$  มิลลิเมตร ลูกปลามีลำตัวใส และมีถุงไข่แดงขนาดใหญ่



ภาพที่ 8 ลูกปลาแมนดารินอายุ 6 ชั่วโมง ดวงตาไม่มีเม็ดสี อวัยวะภายในยังไม่พัฒนา



ภาพที่ 9 ลูกปลาแมนดารินอายุ 6 ชั่วโมง มีระบบทางเดินอาหารเป็นท่อตรง





อายุ 1 วัน ความยาว  $1.64 \pm 0.21$  มิลลิเมตร



อายุ 2 วัน ความยาว  $1.97 \pm 0.24$  มิลลิเมตร



อายุ 3 วัน ความยาว  $2.21 \pm 0.16$  มิลลิเมตร



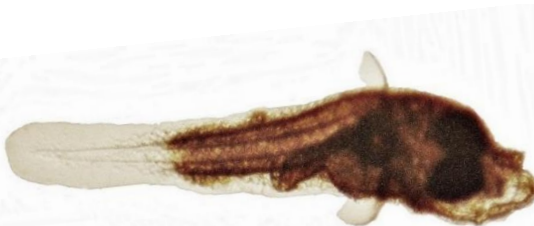
อายุ 4 วัน ความยาว  $2.24 \pm 0.18$  มิลลิเมตร



อายุ 5 วัน ความยาว  $2.26 \pm 0.35$  มิลลิเมตร



อายุ 6 วัน ความยาว  $2.46 \pm 0.17$  มิลลิเมตร



อายุ 7 วัน ความยาว  $2.53 \pm 0.05$  มิลลิเมตร



อายุ 8 วัน ความยาว  $2.54 \pm 0.31$  มิลลิเมตร

ภาพที่ 10 พัฒนาการการเจริญเติบโตของลูกปลาแมนดารินอายุ 1 ถึง 8 วัน

## คุณภาพน้ำการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 1 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในแต่ละเดือนในตู้ทดลอง 12 ตู้ (ตารางที่ 3) ตลอดระยะเวลาการทดลองพบว่าค่าพีเอชของน้ำอยู่ในช่วง 8.2-8.7 อุณหภูมิน้ำเฉลี่ยอยู่ในช่วง 25.5 -27.7 °C ความเค็มน้ำทะเลอยู่ในช่วง 32-33 พีพีที อัลคาไลน์ที่อยู่ในช่วง 93-140 มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.00 - 0.08 มิลลิกรัม/ลิตร และไนโตรท-ไนโตรเจนประมาณ 0.02-0.07 มิลลิกรัม/ลิตร

ตารางที่ 10 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในตู้ทดลองพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวของการทดลองที่ 1 จำนวน 12 ตู้ตลอดระยะเวลาทดลอง 8 เดือน

เดือน/ พารามิเตอร์	พีเอช	อุณหภูมิ	ความเค็ม	อัลคาร์นิต์	แอมโมเนีย	ไนโตรท
กุมภาพันธ์	8.2-8.3	25.9 ± 0.5	33.3 ± 0.5	110.5 ± 6.4	0.02 ± 0.02	0.02 ± 0.01
มีนาคม	8.1-8.2	26.7 ± 0.6	33.3 ± 6.4	119.3 ± 30.1	0.03 ± 0.05	0.07 ± 0.01
เมษายน	8.6-8.7	27.7 ± 1.2	30.3 ± 4.0	144.0 ± 5.7	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.01
พฤษภาคม	8.0-8.1	25.5 ± 0.7	32.5 ± 0.7	112.0 ± 2.8	0.08 ± 0.11	0.07 ± 0.04
มิถุนายน	8.0-8.1	27.5 ± 0.7	34.0 ± 1.4	118.0 ± 5.7	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.03
กรกฎาคม	8.0-8.1	26.0 ± 2.8	34.5 ± 0.7	120.0 ± 8.5	0.04 ± 0.03	0.03 ± 0.02
สิงหาคม	8.0-8.1	27.5 ± 0.7	32.5 ± 2.1	116.0 ± 5.7	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.01
กันยายน	8.0-8.1	26.0 ± 0.0	33.5 ± 0.7	93.0 ± 18.4	0.00 ± 0.01	0.05 ± 0.01

## การทดลองที่ 2 ผลของการเลี้ยงปลาแมนดารินเขียวด้วยอาหารเม็ดและการเลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียตัว

### เต็มวัยที่ระดับความหนาแน่นต่างกันต่อผลผลิตไข่ของปลาแมนดารินเขียว

เริ่มการทดลองเมื่อลูกปลาแมนดารินเขียว (F1) อายุ 1 ปี 3 เดือน (15 เดือน) ปลาแมนดารินเพศผู้เริ่มต้นทดลองมีขนาดน้ำหนักและความยาวเท่ากับ  $1.45 \pm 0.24$  กรัม และ  $3.65 \pm 0.27$  เซนติเมตร และปลาแมนดารินเพศเมียเริ่มต้นทดลองมีน้ำหนัก  $1.09 \pm 0.23$  กรัมและความยาว  $3.28 \pm 0.13$  เซนติเมตร ในการทดลองนี้ทดลองในตู้กระจกเฉพาะส่วนพื้นที่เลี้ยง (ไม่รวมพื้นที่ระบบกรอง) มีปริมาตรน้ำ 180 ลิตรและให้ปลาแมนดารินเขียวกินอาหารทดลองจำนวน 2 ครั้งต่อวัน ผลการทดลองพบว่าเฉพาะปลาแมนดารินเขียวเพศเมียที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้งจำนวน 1 ตัว และปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้งจำนวน 2 ตัวให้ผลผลิตไข่แต่ไข่ที่ได้จากปลาที่กินอาหารทั้งระดับเป็นไข่เสียทั้งหมด ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้งออกไข่ครั้งแรกเมื่ออายุ 1 ปี 7 เดือน (19 เดือน) และปลาแมนดารินเขียวเพศเมียกินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้งออกไข่ครั้งแรกเมื่ออายุ 2 ปี (24 เดือน) และอายุ 2 ปี 5 เดือน ( 29 เดือน) แต่ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ลิตร/ครั้งและปลาแมนดารินเขียวที่กินอาหารเม็ดไม่พบว่าปลาที่กินอาหารสองชนิดนี้ออกไข่จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเดือนมิถุนายน 2559 และปลาแมนดารินเขียวมีอายุ 2 ปี 8 เดือน ผลผลิตไข่ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาหารที่ปริมาณ 3-4 ตัวต่อลิตรนี้มีปริมาณใกล้เคียงกัน แต่ปลาที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง วางไข่บ่อยครั้งกว่าปลาแมนดารินเขียวที่

กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง (ตารางที่ ) และจำนวนไขมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปลา มีขนาดและอายุเพิ่มขึ้นซึ่งเห็นได้ชัดเจนในปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมีย 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง (ตู้ทดลองที่ 7) ออกไข่ครั้งแรกมีจำนวนมากกว่า 150 ใบซึ่งมากกว่าจำนวนไข่ของปลาแมนดารินที่กินอาหารระดับเดียวกัน (ตู้ทดลองที่ 8) ที่ออกไข่เมื่อมีอายุน้อยกว่า 5 เดือน แต่อย่างไรก็ตาม ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง วางไข่ได้เพียง 3 ครั้งและตายเนื่องจากสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงจึงทำให้ไม่มีข้อมูลเพิ่มเติม ความถี่ในการออกไข่และจำนวนผลผลิตไข่ของปลาแมนดารินเขียวแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ความถี่การออกไข่และจำนวนไข่ (ไข่เสีย) ของปลาแมนดารินเขียวแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยเป็นอาหาร 2 ครั้งต่อวัน

วันเดือนปี	ตู้ทดลอง	จำนวนไข่ปลาแมนดารินเขียวแมนดารินเขียว	
		กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง	กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง
04/05/58	2	28	-
25/05/58	2	46	-
04/06/58	2	24 *	-
26/10/58	8	-	24
19/11/58	8	-	38 **
13/12/58	8	-	32 **
26/12/58	8	-	82 **
21/02/59	8	-	24 **
25/02/59	8	-	263 **
5/03/59	7		157

หมายเหตุ \* ปลาเพศเมียที่ออกไข่ตายในเดือนพฤศจิกายน 2558 \*\* ปลาเพศผู้ตายในเดือนพฤศจิกายน 2558 เนื่องจากสภาพอากาศหนาวกระทันหัน เพศเมียออกไข่โดยไม่มีปลาเพศผู้ในตัว

นอกจากนี้ในช่วงระยะเวลาของการทดลอง สภาพอากาศมีการเปลี่ยนแปลงกระทันหันจากสภาพอากาศร้อนเป็นสภาพอากาศหนาวเย็นในเดือนพฤศจิกายน 2558 และเดือนกุมภาพันธ์ 2559 ซึ่งมีผลให้อุณหภูมิน้ำในตู้ทดลองลดลงกระทันหันจากอุณหภูมิประมาณ 28-29 °C ลดลงมาอยู่ที่ 18-21 °C ภายในระยะเวลารวดเร็ว (น้อยกว่า 24 ชั่วโมง) (อุณหภูมิสูงสุดต่ำสุดในระยะเวลา 24 ชั่วโมงของวันที่ 25-29 กุมภาพันธ์ 2559 ระหว่าง 19 - 27 °C) มีผลให้ปลาทดลองทั้งเพศผู้และเพศเมียตายในทุกทรีตเมนต์ แต่ปลาแมนดารินเพศผู้ตายมากกว่าปลาเพศเมียทำให้เหลือปลาทดลองเฉพาะปลาแมนดารินเพศเมีย ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ที่ให้กินอาหารเม็ดตายในเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 1 ตัว และตายในเดือนมกราคม 2559 จำนวน 1 ตัว (ในทรีตเมนต์อาหารเม็ดจึงเหลือปลาทดลอง 1 คู่และปลาทดลองเพศเมียจำนวน 2 ตัว 1 ตัว/ตู้ทดลอง) ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง (ปลาตัวที่ออกไข่) ตายในเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 1 ตัว และปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้งตายในเดือนมกราคม 2559 จำนวน 1 ตัว (เหลือปลาทดลองเพศผู้และเพศเมีย 1 คู่ ปลาทดลองเพศเมียจำนวน 1 ตัว/ตู้ทดลองและเพศผู้จำนวน 1 ตัว/ตู้ทดลอง) ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ที่ให้กินอาร์ทีเมีย 4 ตัว/ลิตร/ครั้งตายในเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 1 ตัว (เหลือปลาทดลอง 2 คู่ และปลาเพศเมียจำนวน 1 ตัว/ตู้ทดลอง) ปลาแมนดารินเขียวที่ให้กินอาหาร 2 ตัว/ลิตร/ครั้งจำนวน 1 คู่ตายในเดือนกุมภาพันธ์ 2559 (เหลือปลาทดลองจำนวน 2 คู่)

หลังจากนั้นได้ทำการติดตั้งระบบควบคุมอุณหภูมิให้อุณหภูมิของน้ำอยู่ที่ 25 - 26 °C และทำการทดลองต่อไปจนถึงเดือนมิถุนายน 2559 ไม่พบการออกไข่ของปลาแมนดารินเขียวที่เหลือจึงสิ้นสุดการทดลอง

การทดลองที่ 2 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในแต่ละเดือนในตู้ทดลอง 12 ตู้ ตลอดระยะเวลาการทดลองพบว่าค่าพีเอชของน้ำอยู่ในช่วง 7.7 - 8.1 อุณหภูมิน้ำเฉลี่ยอยู่ในช่วง 25.6 - 28.4 °C ความเค็มน้ำทะเลอยู่ในช่วง 31 - 35 พีพีที อัลคาไลน์ตี้อยู่ในช่วง 92.4 - 118.8 มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.00 - 0.06 มิลลิกรัม/ลิตร และไนโตรท-ไนโตรเจนประมาณ 0.00 - 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร ในช่วงเดือนที่ปลาแมนดารินเขียวออกไข่อุณหภูมิของน้ำของในตู้ทดลองอยู่ในช่วง 25.6-27.3°C (ตารางที่ 12-15)

ตารางที่ 12 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในตู้ทดลองจำนวน 3 ตู้ ของการทดลองที่ 2 ที่ให้พ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดา  
 รินเขียวกินอาร์ทีเมีย 2 ตัว/ลิตร/ครั้งตลอดระยะเวลาทดลอง 1 ปี 6 เดือน ( 18 เดือน)

เดือน/ พารามิเตอร์	พีเอช	อุณหภูมิ	ความเค็ม	อัลคาร์นิตี	แอมโมเนีย	ไนโตรท
มค 58	7.82-8.14	26.1 ± 0.9 (25.1-27.6)	32.5 ± 1.0 (30-33)	115.5 ± 11.8 (90-132)	0.06 ± 0.04 (0.01-0.08)	0.04 ± 0.03 (0.010-0.026)
กพ 58	8.02-8.13	26.7 ± 0.9 (25.6-27.9)	32.9 ± 1.4 (32-34)	118.8 ± 6.7 (108-132)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)	0.03 ± 0.01 (0.01-0.03)
มีค 58	8.00-8.08	26.9 ± 1.3 (25.0-28.4)	33.7 ± 1.7 (31-35)	101.0 ± 5.9 (90-110)	0.04 ± 0.03 (0.00-0.09)	0.03 ± 0.02 (0.01-0.04)
เมย 58	7.96-8.04	28.0 ± 0.9 (26.3-29.2)	33.5 ± 1.1 (32-35)	102.3 ± 3.5 (98-108)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.01)	0.03 ± 0.02 (0.00-0.09)
พค 58	7.96-8.03	27.9 ± 0.8 (26.2-28.5)	34.4 ± 0.9 (33-36)	103.4 ± 4.0 (98-110)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)	0.05 ± 0.05 (0.01-0.15)
มิย 58	7.10-8.31	27.3 ± 1.9 (25.0-29.4)	32.7 ± 1.5 (30-35)	98.2 ± 6.0 (90-110)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.04)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.06)
กค 58	7.71-8.05	27.4 ± 1.0 (26.0-28.7)	33.5 ± 0.8 (32-34)	95.0 ± 10.1 (86-110)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.08)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.01)
สค 58	7.90-8.08	27.3 ± 1.0 (26.3-28.8)	33.6 ± 0.5 (33-34)	96.8 ± 9.2 (90-116)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.07)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.01)
กย 58	7.92-8.03	26.7 ± 0.9 (25.6-27.7)	33.4 ± 0.5 (33-34)	95.5 ± 10.0 (86-108)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.03)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.01)
ตค 58	7.83-8.03	26.5 ± 0.4 (26.1-27.1)	33.0 ± 0.5 (32-34)	100.1 ± 10.6 (80-110)	0.03 ± 0.04 (0.00-0.09)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.01)
พย 58	7.88-7.94	27.2 ± 0.5 (26.9-28.1)	33.3 ± 0.6 (33-34)	101.0 ± 6.4 (90-108)	0.00 ± 0.01 (0.00-0.03)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.01)
ธค 58	7.88-8.12	26.9 ± 1.2 (25.4-29.6)	32.9 ± 0.5 (32-34)	92.4 ± 6.0 (88-100)	0.06 ± 0.05 (0.00-0.14)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.01)
มค 59	7.92-8.05	25.6 ± 0.4 (24.5-25.7)	3.1 ± 0.6 (33-34)	95.2 ± 4.5 (88-102)	0.02 ± 0.01 (0.00-0.04)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
กพ 59	7.80-7.96	26.1 ± 1.5 (25.6-27.2)	32.5 ± 0.5 (32-33)	113.3 ± 4.4 (108-118)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.06)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
มีค 59	7.82-8.04	26.8 ± 0.6 (25.9-27.0)	33.1 ± 0.4 (33-34)	108 ± 6.3 (96-114)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.02)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
เมย 59	7.42-7.57	27.5 ± 1.0 (26.1-29.1)	33 ± 0.0 (33-33)	101.6 ± 6.6 (96-118)	0.01 ± 0.03 (0.00-0.09)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
พค 59	7.72	28.3 ± 0.1 (28.2-28.3)	34 ± 0.0 (34-34)	108.0 ± 5.7 (104-108)	0.03 ± 0.01 (0.02-0.03)	0.00 ± 0.01 (0.00-0.01)

ค่าในวงเล็บคือค่าสูงสุด-ต่ำสุดของแต่ละพารามิเตอร์ในแต่ละเดือน

ตารางที่ 13 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในตู้ทดลองจำนวน 3 ตู้ ของการทดลองที่ 2 ที่ให้พ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดา  
 รินเขียวกินอาร์ทีเมีย 3 ตัว/ลิตร/ครั้งตลอดระยะเวลาทดลอง 1 ปี 6 เดือน ( 18 เดือน)

เดือน/ พารามิเตอร์	พีเอช	อุณหภูมิ	ความเค็ม	อัลคาร์นิตี	แอมโมเนีย	ไนโตรท
มค 58	8.03-8.15	26.2 ± 0.8 (25.0-27.6)	33.0 ± 0.9 (32-34)	113.2 ± 8.2 (94-122)	0.05 ± 0.05 (0.01-0.14)	0.03 ± 0.01 (0.01-0.06)
กพ 58	8.03-8.11	26.8 ± 0.9 (25.7-28.0)	33.1 ± 1.2 (32-35)	112.3 ± 6.2 (100-118)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.04)	0.02 ± 0.01 (0.01-0.04)
มีค 58	8.00-8.13	26.9 ± 1.3 (25.0-28.7)	33.7 ± 1.7 (31-35)	100.5 ± 3.1 (98-106)	0.04 ± 0.03 (0.00-0.06)	0.03 ± 0.02 (0.01-0.04)
เมย 58	7.95-8.06	28.1 ± 0.9 (26.6-29.1)	33.5 ± 1.1 (32-35)	102.9 ± 3.6 (96-106)	0.01 ± 0.02 (0.00-0.03)	0.04 ± 0.03 (0.00-0.08)
พค 58	7.94-8.04	27.9 ± 0.7 (26.5-28.5)	34.7 ± 0.8 (33-36)	102.7 ± 4.6 (96-110)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.08)	0.04 ± 0.04 (0.00-0.13)
มิย 58	7.96-8.13	27.3 ± 1.9 (25.0-29.5)	32.7 ± 1.6 (30-35)	99.2 ± 8.9 (88-122)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.05)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
กค 58	7.84-8.04	27.5 ± 1.0 (26.1-28.8)	33.8 ± 0.4 (33-34)	97.3 ± 9.1 (86-114)	0.04 ± 0.03 (0.00-0.04)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.03)
สค 58	7.90-8.00	27.3 ± 1.0 (26.2-28.5)	33.6 ± 0.5 (33-34)	95.0 ± 6.8 (90-114)	0.03 ± 0.02 (0.00-0.06)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.03)
กย 58	7.82-7.96	27.6 ± 0.8 (25.8-27.8)	33.0 ± 0.5 (33-34)	112.0 ± 8.0 (90-100)	0.01 ± 0.03 (0.00-0.06)	0.05 ± 0.01 (0.00-0.03)
ตค 58	7.86-8.02	26.4 ± 0.3 (26.0-26.9)	32.5 ± 1.7 (31-34)	98.3 ± 10.4 (94-114)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.05)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.03)
พย 58	7.87-8.00	27.2 ± 0.5 (26.8-28.2)	33.4 ± 0.6 (33-35)	103.2 ± 4.4 (96-106)	0.01 ± 0.02 (0.00-0.08)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.03)
ธค 58	7.85-8.00	26.8 ± 1.1 (25.9-28.5)	33.3 ± 0.7 (32-34)	94.0 ± 9.0 (84-114)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.08)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.03)
มค 59	7.91-8.00	25.6 ± 0.3 (24.9-25.8)	33.3 ± 0.5 (33-34)	94.4 ± 5.9 (86-102)	0.03 ± 0.02 (0.00-0.07)	0.01 ± 0.01 (0.00=0.03)
กพ 59	7.79-7.89	26.3 ± 0.7 (25.5-27.0)	32.6 ± 0.8 (32-34)	116 ± 7.4 (106-128)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.08)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.03)
มีค 59	7.84-7.96	27.0 ± 0.6 (26.3-27.7)	33.1 ± 0.4 (33-34)	110.2 ± 8.4 (98-116)	0.01 ± 0.02 (0.00-0.05)	0.02 ± 0.01 (0.00-0.03)
เมย 59	7.72-7.80	27.6 ± 0.8 (26.1-28.7)	33 ± 0.0 (33-33)	101.2 ± 3.2 (98-104)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.03)	0.02 ± 0.01 (0.00-0.03)
พค 59	7.74-7.75	28.40.1 (28.3-28.5)	34 ± 0.0 (34-34)	105.0 ± 1.4 (104-106)	0.04 ± 0.00 (0.04-0.04)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.03)

ค่าในวงเล็บคือค่าสูงสุด-ต่ำสุดของแต่ละพารามิเตอร์ในแต่ละเดือน

ตารางที่ 14 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในตู้ทดลองจำนวน 3 ตู้ ของการทดลองที่ 2 ที่ให้พ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดา  
 ริน เขียวกินอาร์ทีเมีย 4 ตัว/ลิตร/ครั้งตลอดระยะเวลาทดลอง 1 ปี 6 เดือน ( 18 เดือน)

เดือน/ พารามิเตอร์	พีเอช	อุณหภูมิ	ความเค็ม	อัลคาร์นิตี	แอมโมเนีย	ไนโตรท
มค 58	8.01-8.15	26.1 ± 1.0 (25.1-27.6)	32.2 ± 1.5 (32-34)	111.3 ± 7.7 (90-118)	0.05 ± 0.05 (0.00-0.14)	0.03 ± 0.02 (0.01-0.05)
กพ 58	8.04-8.14	26.7 ± 1.0 (25.0-28.0)	33.3 ± 1.7 (31-35)	113.8 ± 7.5 (106-122)	0.00 ± 0.01 (0.00-0.03)	0.03 ± 0.02 (0.01-0.07)
มีค 58	8.00-8.11	27.0 ± 1.3 (25.0-28.4)	33.6 ± 1.7 (31-35)	100.5 ± 3.3 (96-102)	0.03 ± 0.02 (0.00-0.08)	0.05 ± 0.02 (0.03-0.08)
เมย 58	7.93-8.05	28.1 ± 0.9 (26.3-29.5)	33.9 ± 1.1 (32-35)	100.7 ± 4.3 (96-106)	0.00 ± 0.01 (0.00-0.03)	0.06 ± 0.05 (0.00-0.14)
พค 58	7.94-8.06	27.8 ± 0.8 (26.1-28.4)	34.3 ± 1.1 (33-35)	99.5 ± 4.2 (96-104)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.05)	0.06 ± 0.07 (0.02-0.21)
มิย 58	7.93-8.05	27.4 ± 1.9 (25.0-29.4)	32.6 ± 1.3 (31-35)	97.9 ± 6.2 (90-112)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.07)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.08)
กค 58	7.90-8.04	27.5 ± 1.0 (26.1-28.9)	33.3 ± 0.8 (32-34)	93.5 ± 9.3 (86-110)	0.05 ± 0.05 (0.00-0.15)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
สค 58	7.88-7.95	27.3 ± 0.9 (26.1-28.5)	33.4 ± 0.5 (33-34)	92.7 ± 10.4 (90-110)	0.04 ± 0.03 (0.00-0.09)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
กย 58	7.89-7.96	26.7 ± 0.9 (25.8-27.6)	33.6 ± 0.5 (33-34)	97.7 ± 6.8 (92-100)	0.01 ± 0.02 (0.00-0.02)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
ตค 58	7.84-7.93	26.5 ± 0.3 (26.1-26.9)	33.1 ± 0.5 (32-34)	96.7 ± 10.5 (80-108)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.08)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
พย 58	7.87-7.95	27.2 ± 0.6 (26.2-28.2)	33.3 ± 0.4 (33-34)	96.8 ± 2.9 (92-203)	0.02 ± 0.04 (0.00-0.07)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
ธค 58	7.82-7.96	26.7 ± 1.1 (25.8-27.4)	33.1 ± 0.6 (32-34)	93.3 ± 7.4 (80-104)	0.04 ± 0.03 (0.00-0.08)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
มค 59	7.91-7.98	25.6 ± 0.3 (25.0-26.0)	33.1 ± 0.4 (33-34)	93.5 ± 10.9 (84-118)	0.03 ± 0.01 (0.01-0.04)	0.0 ± 00.00 (0.00-0.00)
กพ 59	7.80-7.90	26.1 ± 0.6 (25.6-27.1)	32.5 ± 0.5 (32-33)	109.2 ± 5.1 (102-114)	0.03 ± 0.04 (0.00-0.08)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
มีค 59	7.82-7.91	26.9 ± 0.6 (25.9-27.4)	33.0 ± 0.00 (33-33)	107.8 ± 6.7 (98-116)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.03)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
เมย 59	7.62-7.82	27.4 ± 0.8 (26.2-28.5)	33 ± 0.0 (33-33)	98.7 ± 3.5 (96-106)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.02)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)
พค 59	7.71-7.74	28.4 ± 0.1 (28.3-28.5)	34 ± 0.0 (34-34)	104 ± 4.0 (100-108)	0.02 ± 0.01 (0.01-0.03)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)

ค่าในวงเล็บคือค่าสูงสุด-ต่ำสุดของแต่ละพารามิเตอร์ในแต่ละเดือน

ตารางที่ 15 คุณภาพน้ำเฉลี่ยในตู้ทดลองจำนวน 3 ตู้ ของการทดลองที่ 2 ที่ให้พ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดา  
 รับประทานอาหารเม็ดตลอดระยะเวลาทดลอง 1 ปี 6 เดือน ( 18 เดือน)

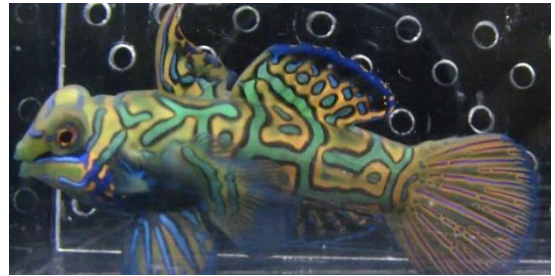
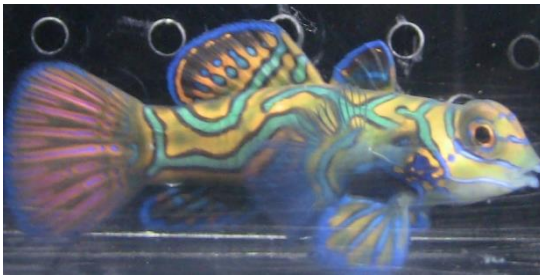
เดือน/ พารามิเตอร์	พีเอช	อุณหภูมิ	ความเค็ม	อัลคาร์นิตี	แอมโมเนีย	ไนโตรท
มค 58	8.00-8.16	26.1 ± 1.0 (25.1-27.6)	32.4 ± 1.4 (30-33)	111.3 ± 0.8 (94-122)	0.06 ± 0.05 (0.00-0.21)	0.03± 0.02 (0.01-0.07)
กพ 58	8.01-8.13	26.8 ± 0.8 (25.5-28.0)	32.9 ± 1.2 (31-35)	117.3 ± 11.5 (100-130)	0.00 ± 0.00 (0.00-0.00)	0.05 ± 0.09 (0.01-0.10)
มีค 58	8.00-8.10	27.0 ± 1.2 (25.0-28.3)	33.7 ± 1.7 (31-35)	103.2 ± 5.6 (94-116)	0.04 ± 0.03 (0.01-0.10)	0.03 ± 0.02 (0.01-0.05)
เมย 58	7.96-8.06	28.1 ± 1.0 (26.3-29.4)	33.3 ± 1.2 (32-36)	100.7 ± 2.7 (96-104)	0.01 ± 0.02 (0.00-0.02)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.12)
พค 58	7.95-8.04	27.9 ± 0.7 (26.7-28.4)	34.4 ± 0.8 (33-36)	104 ± 3.9 (100-110)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.06)	0.02 ± 0.01 (0.01-0.04)
มิย 58	7.94-8.05	27.4 ± 1.9 (25.0-29.4)	32.7 ± 1.2 (31-35)	94.2 ± 4.9 (88-102)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.05)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
กค 58	7.89-8.05	27.5 ± 1.0 (26.2-28.8)	33.5 ± 0.7 (32-34)	97.8 ± 12.0 (88-124)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.05)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
สค 58	7.88-7.96	27.3 ± 1.0 (26.1-28.5)	33.3 ± 0.7 (32-34)	97.5 ± 5.3 (90-108)	0.04 ± 0.02 (0.00-0.06)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
กย 58	7.91-7.97	26.6 ± 0.9 (25.7-27.7)	33.3 ± 0.5 (33-34)	104.5 ± 8.4 (92-110)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.04)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
ตค 58	7.85-7.95	26.5 ± 0.3 (26.0-26.9)	32.9 ± 0.4 (33-34)	107.5 ± 10.9 (98-112)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.09)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
พย 58	7.86-7.94	27.3 ± 0.5 (26.7-28.2)	33.5 ± 0.6 (33-34)	104.8 ± 6.4 (94-104)	0.01 ± 0.03 (0.00-0.11)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
ธค 58	7.83-7.95	26.8 ± 1.1 (25.8-28.4)	32.7 ± 0.5 (32-33)	98.9 ± 6.6 (88-110)	0.05 ± 0.04 (0.01-0.13)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
มค 59	7.94-8.00	25.6 ± 0.3 (25.1-25.9)	33.1 ± 0.3 (33-34)	100 ± 5.8 (94-108)	0.03 ± 0.02 (0.01-0.06)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
กพ 59	7.80-7.91	26.2 ± 0.5 (25.5-26.9)	32.4 ± 0.5 (32-33)	116.5 ± 6.7 (104-122)	0.03 ± 0.03 (0.00-0.06)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
มีค 59	7.82-7.87	27.0 ± 0.6 (25.9-27.7)	33.1 ± 0.3 (33-34)	108.3 ± 8.4 (94-118)	0.01 ± 0.01 (0.00-0.04)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
เมย 59	7.73-7.82	27.5 ± 0.7 (26.2-28.4)	33.0 ± 0.0 (33-33)	100.8 ± 2.9 (98-104)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.08)	0.02 ± 0.02 (0.00-0.05)
พค 59	7.74	28.3 ± 0.1 (28.2-28.4)	34.0 ± 0.0 (34-34)	107.3 ± 2.3 (106-110)	0.03 ± 0.01 (0.03-0.04)	0.02 ± 0.03 (0.00-0.05)

ค่าในวงเล็บคือค่าสูงสุด-ต่ำสุดของแต่ละพารามิเตอร์ในแต่ละเดือน



## พัฒนาการการสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียว

เมื่อปลาแมนดารินเขียวมีการเจริญเติบโตและมีพัฒนาการระบบสืบพันธุ์มากขึ้นทำให้สามารถแยกเพศของปลาแมนดารินเขียวเพื่อการจับคู่เป็นพ่อแม่พันธุ์นั้นกระทำได้จากลักษณะภายนอกโดยการสังเกตลักษณะและความยาวของกระโดงครีบหลัง ปลาแมนดารินเขียวยังไม่สามารถแยกเพศได้เมื่อมีอายุระหว่าง 4-5 เดือน แต่หลังจากปลาแมนดารินเขียวอายุได้ 5 เดือนขึ้นไปสามารถแยกเพศได้โดยปลาแมนดารินเขียวเพศเมียมีกระโดงครีบหลังโค้งมนแต่ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้มีกระโดงครีบหลังแหลมและกระโดงครีบนี้นี้จะมีความยาวเพิ่มขึ้นเมื่อปลามีอายุมากขึ้น ในขณะที่เดียวกัน ระบบสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียวมีการพัฒนามากขึ้น (ภาพที่ 11)



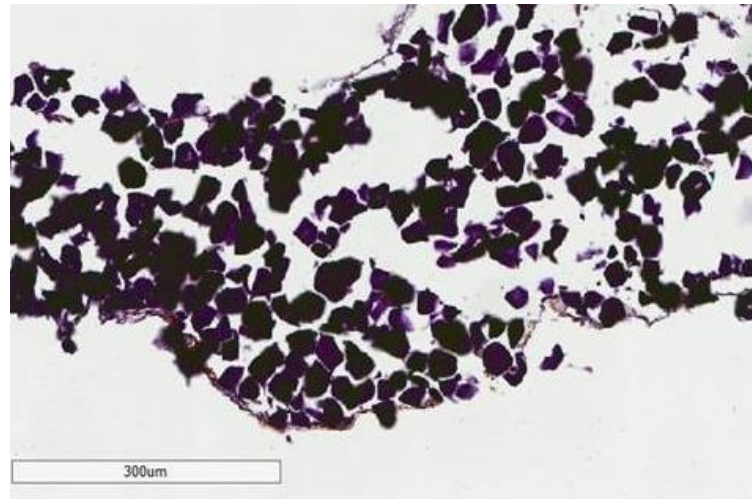
ปลาแมนดารินเขียวเพศเมีย

ปลาแมนดารินเขียวเพศผู้

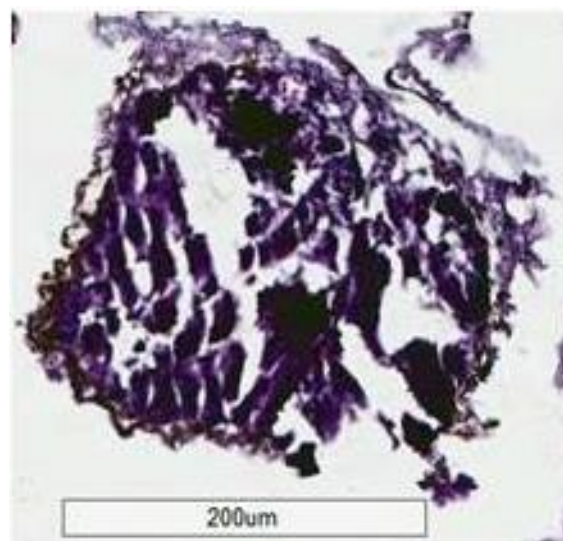
ภาพที่ 11 ลักษณะกระโดงครีบหลังของปลาแมนดารินเพศเมียและเพศผู้ที่ใช้ในการแยกเพศปลาจากลักษณะภายนอก

ปลาแมนดารินเขียวมีอวัยวะสืบพันธุ์เป็นคู่ (ภาพที่ 11) รังไข่มีสีขาวครีมและtestisมีสีดำ (ภาพที่ 11) จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาในปลาแมนดารินเขียวพบว่าปลาแมนดารินเขียวอายุ 6 เดือนยังไม่พบการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ทั้งในปลาเพศผู้และเพศเมีย (ภาพที่ 12-13) และ เมื่อปลาแมนดารินเขียวอายุ 12 เดือนขึ้นไปพบว่ามีการพัฒนาการในการสร้างไข่ (oogenesis) ไข่ที่พบในรังไข่ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 12 เดือนเป็นไข่ระยะ primary growth oocyte (ภาพที่ 14) ไข่ที่พบในรังไข่ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 15 เดือนเป็นไข่ระยะ primary growth oocyte (ภาพที่ 15) ไข่ที่พบในรังไข่ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 17 เดือนเป็นไข่ระยะเริ่มสร้างไข่แดง (cortical alveolar) และไข่ที่มีพัฒนาการสร้างและสะสมไข่แดงระยะที่ 1 (primary vitellogenic oocytes) (ภาพที่ 16) ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 19 เดือน (ภาพที่ 17) อายุ 20 เดือน (ภาพที่ 18) อายุ 24 เดือน (ภาพที่ 19) และอายุ 32 เดือน (ภาพที่ 20-23) ซึ่งเป็นปลาสิ้นสุดการทดลองปีที่ 2 ไข่ที่พบส่วนมากเป็นไข่ระยะ vitellogenic oocyte และระยะ primary growth oocyte สำหรับพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ปลา

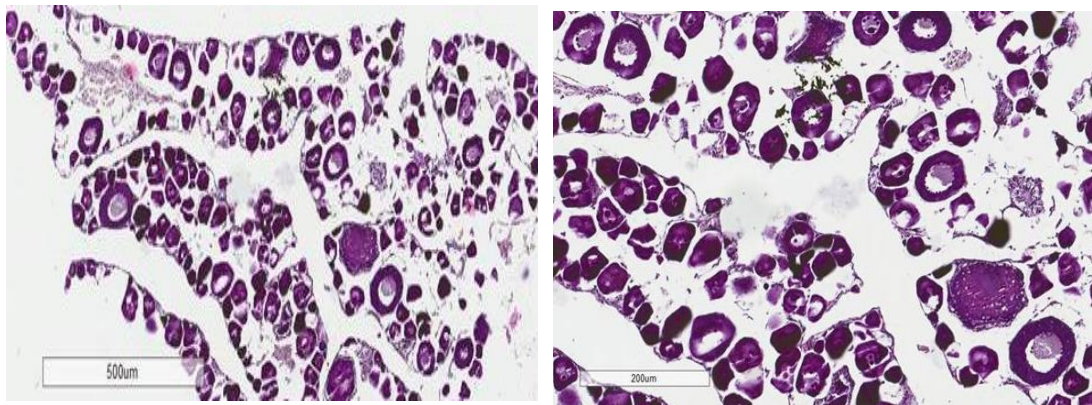
แมนดารินเพศผู้พบเปิร์มระยะ spermatids/ spermstozoa ในปลาแมนดารินเขียวอายุ 12-24 เดือน (ภาพที่ 25-30)



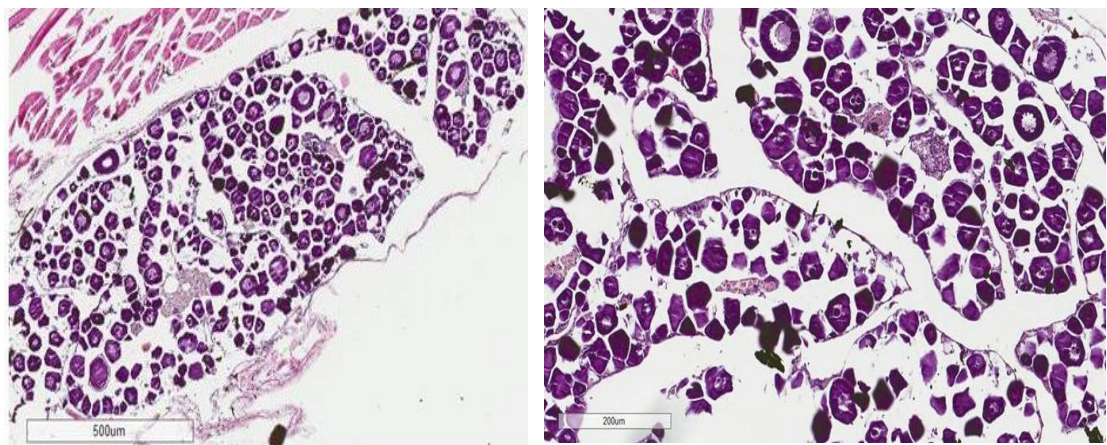
ภาพที่ 12 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 6 เดือน น้ำหนัก 0.42 กรัม ความยาว 2.40 เซนติเมตร ยังไม่พบพัฒนาการของการสร้างไข่ (oogenesis)



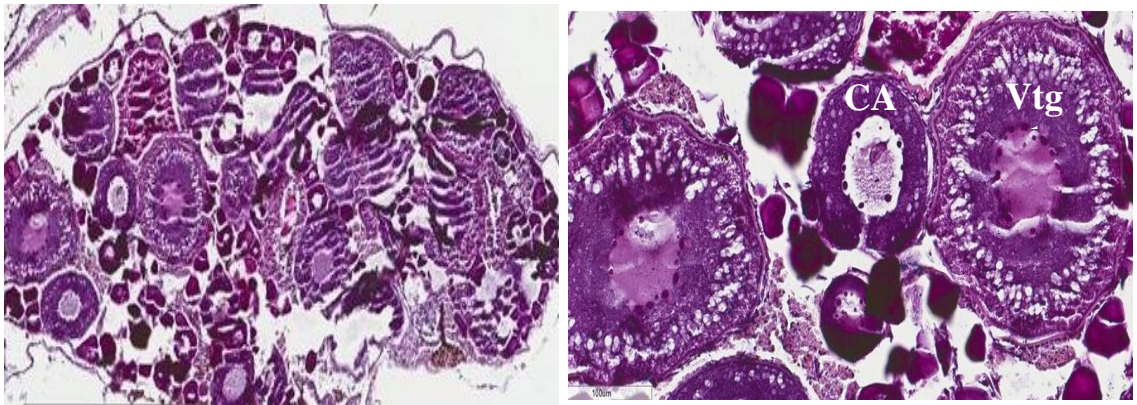
ภาพที่ 13 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 6 เดือน น้ำหนัก 0.58 กรัม ความยาว 2.68 เซนติเมตร ยังไม่พบพัฒนาการของการสร้างสเปิร์ม (spermatogenesis)



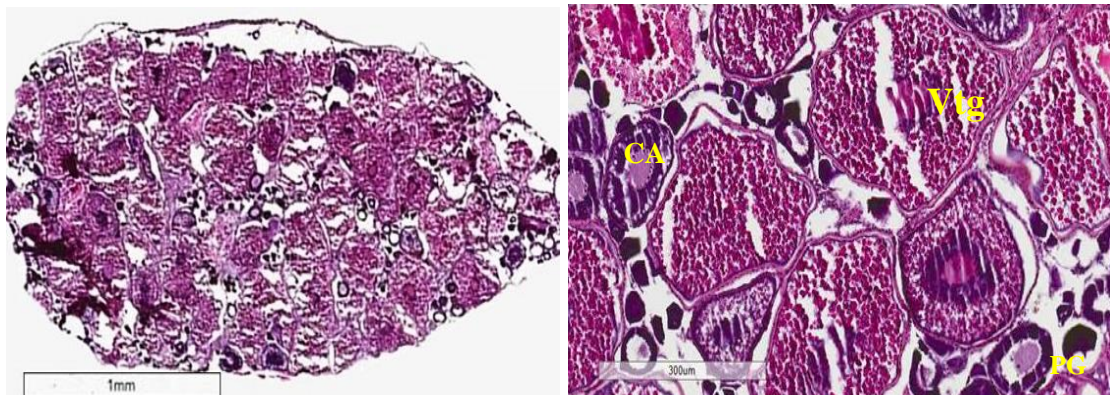
ภาพที่ 14 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมงดาจีนวัยเพศเมียอายุ 12 เดือน น้ำหนัก 1.18 กรัม ความยาว 3.75 เซนติเมตร ฝังไขอยู่ในระยะไม่เจริญพันธุ์ (immature or regenerating พัฒนาการของไข่ออยู่ในระยะ primary growth oocyte



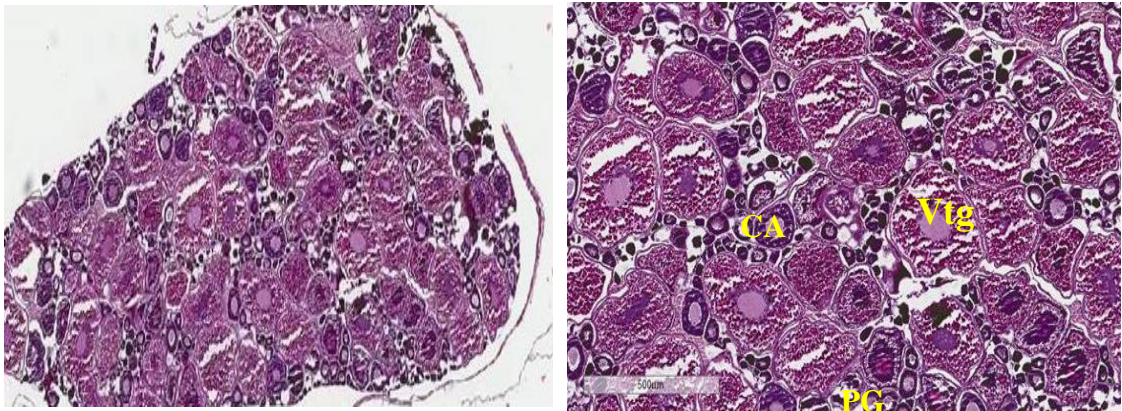
ภาพที่ 15 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมงดาจีนวัยเพศเมียอายุ 15 เดือน น้ำหนัก 1.77 กรัม ความยาว 3.90 เซนติเมตร ฝังไขอยู่ในระยะไม่เจริญพันธุ์ (immature or regenerating พัฒนาการของไข่ออยู่ในระยะ primary growth oocyte (PG)



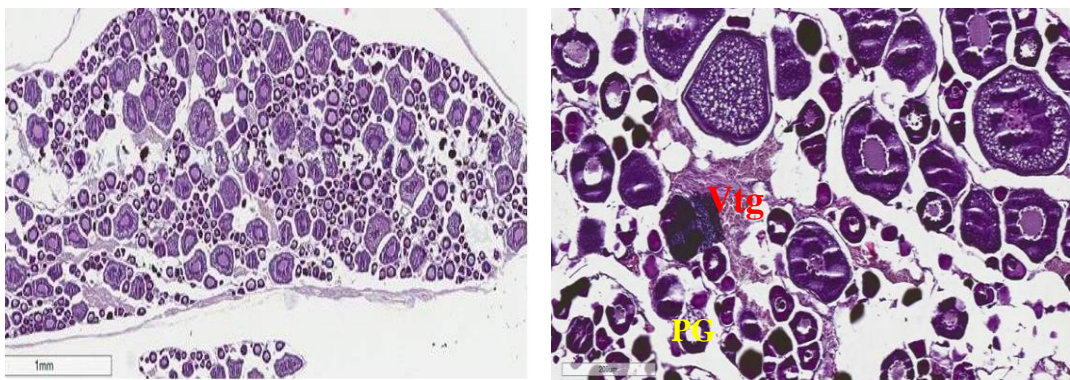
ภาพที่ 16 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 17 เดือน น้ำหนัก 0.78 กรัม ความยาว 2.88 เซนติเมตร พบไข่ระยะ ระยะ cortical alveolar (CA) และ primary vitellogenic oocytes (vtg1)



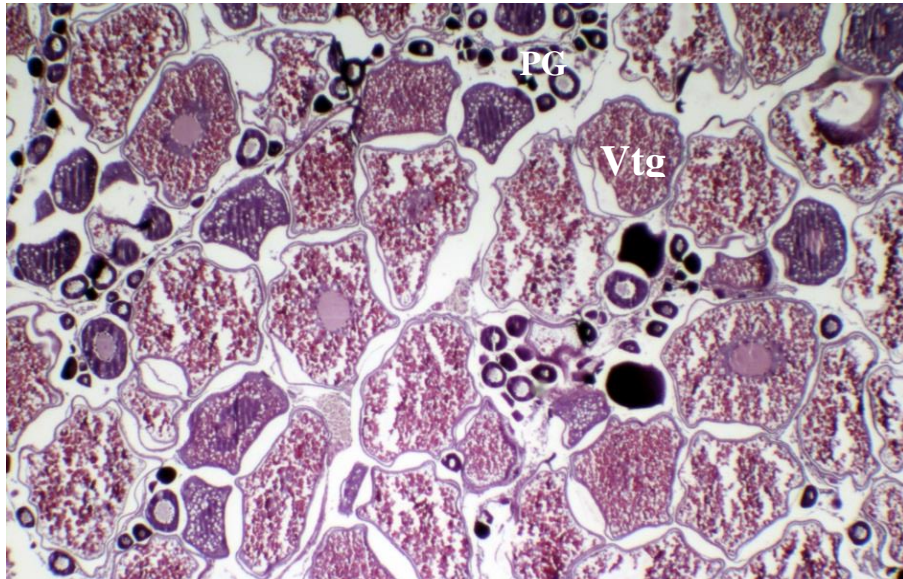
ภาพที่ 17 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 19 เดือน น้ำหนัก 0.5 กรัม ความยาว 3.11 เซนติเมตร พบไข่การสร้างไข่แดง vtg, vitellogenic oocyte; primary growth oocyte (PG); cortical alveolar oocyte (CA)



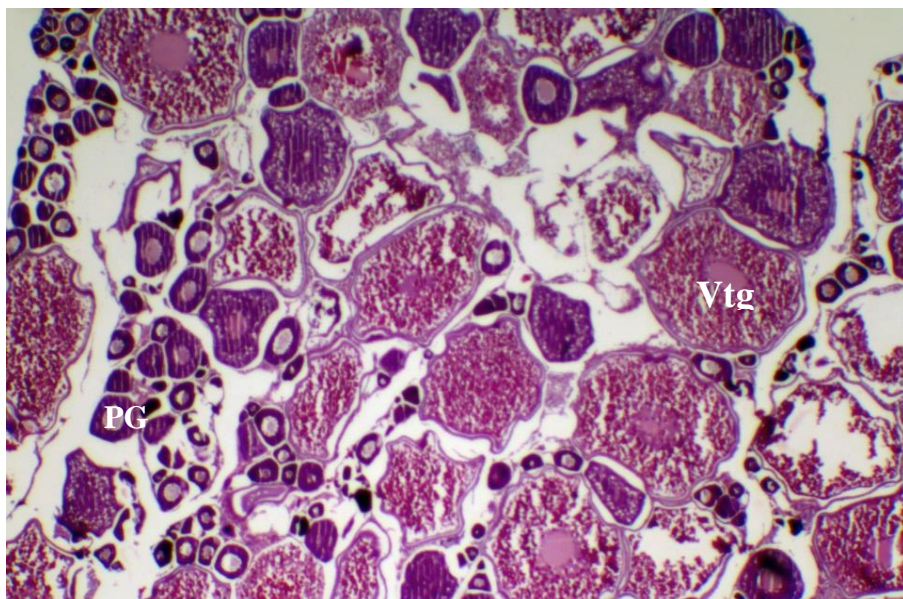
ภาพที่ 18 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 20 เดือน น้ำหนัก 1.00 กรัม ความยาว 3.25 เซนติเมตร พบไข่ระยะ vitellogenic oocytes ที่มีขนาดใหญ่กว่าไข่ในระยะอื่นๆในปริมาณมาก vtg, vitellogenic oocyte; primary growth oocyte (PG); cortical alveoli oocyte (CA)



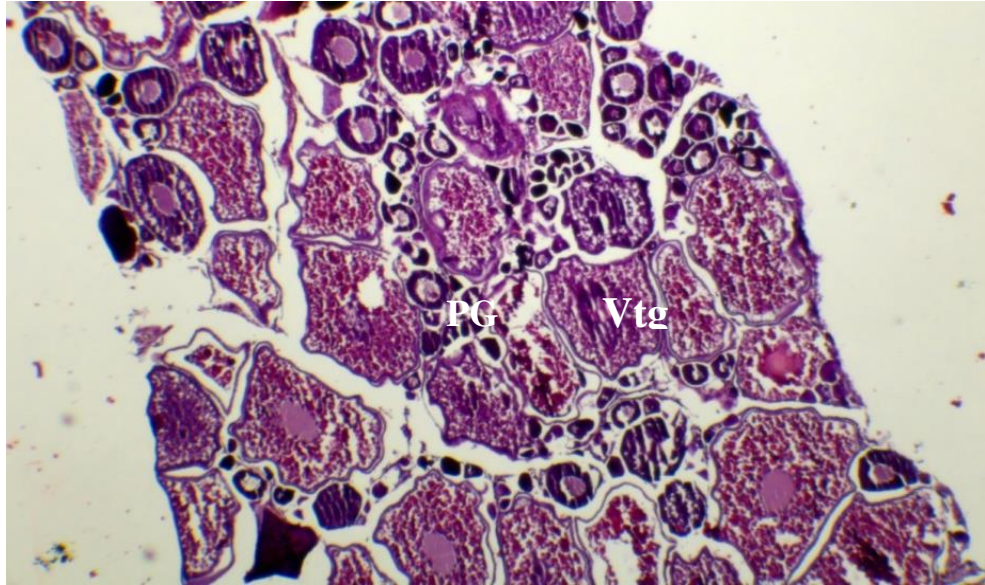
ภาพที่ 19 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 24 เดือน น้ำหนัก 2.94 กรัม ความยาว 4.84 เซนติเมตร พบไข่ระยะ vitellogenic oocytes ที่มีขนาดใหญ่และไข่ระยะอื่นๆที่มีขนาดเล็ก vtg, vitellogenic oocyte; primary growth oocyte (PG); cortical alveoli oocyte (CA)



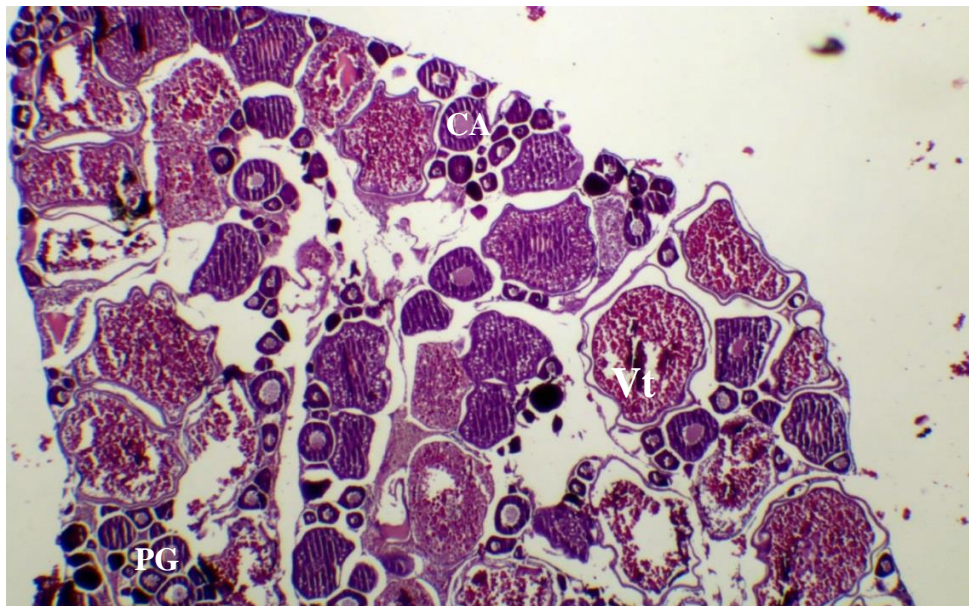
ภาพที่ 20 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมงดารินเขียวเพศเมียสิ้นสุดการทดลองที่ 2 อายุ 32 เดือน น้ำหนัก 4.64 กรัม ความยาว 5.64 เซนติเมตร ที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยอัตรา 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง ในรังไข่พบไข่ระยะ vitellogenic oocytes (Vtg) ปริมาณมาก และพบไข่ระยะ primary growth oocytes (PG)



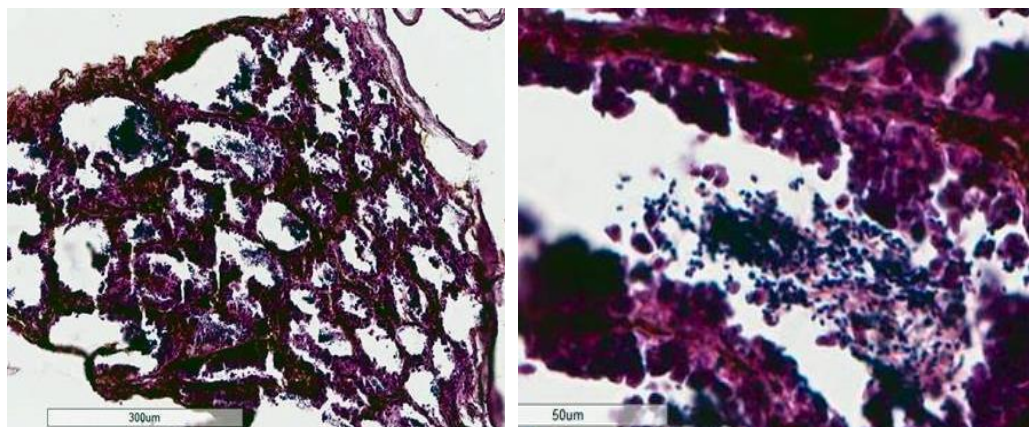
ภาพที่ 21 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมงดารินเขียวเพศเมียสิ้นสุดการทดลองที่ 2 อายุ 32 เดือน น้ำหนัก 4.37 กรัม ความยาว 5.64 เซนติเมตร ที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยอัตรา 3 ตัว/ลิตร/ครั้ง ในรังไข่พบเฉพาะไข่ระยะ vitellogenic oocytes (Vtg) และ primary growth oocytes



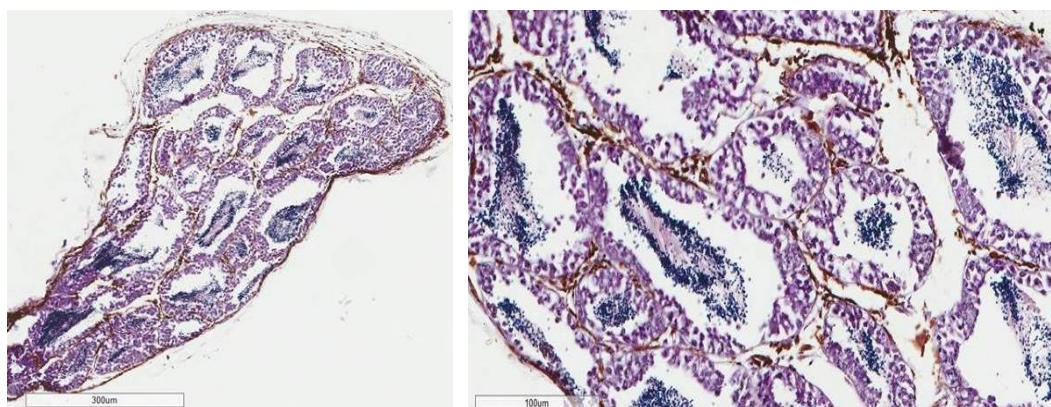
ภาพที่ 22 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมงดารินเขียวเพศเมียสิ้นสุดการทดลองที่ 2 อายุ 32 เดือน น้ำหนัก 2.17 กรัม ความยาว 5.43 เซนติเมตร ที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยอัตรา 2 ตัว/ลิตร/ครั้ง ในรังไข่พบไข่ระยะ vitellogenic oocytes (Vtg) และ primary growth oocytes (PG)



ภาพที่ 23 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (ovary) ของปลาแมงดารินเขียวเพศเมียสิ้นสุดการทดลองที่ 2 อายุ 32 เดือน น้ำหนัก 4.64 กรัม ความยาว 5.64 เซนติเมตร ที่ให้กินอาหารเม็ดที่ผลิตขึ้นชนิดจมน้ำ ในรังไข่พบไข่ระยะ vitellogenic oocytes (Vtg), ortical alveolar (CA) และ primary growth oocytes (PG)

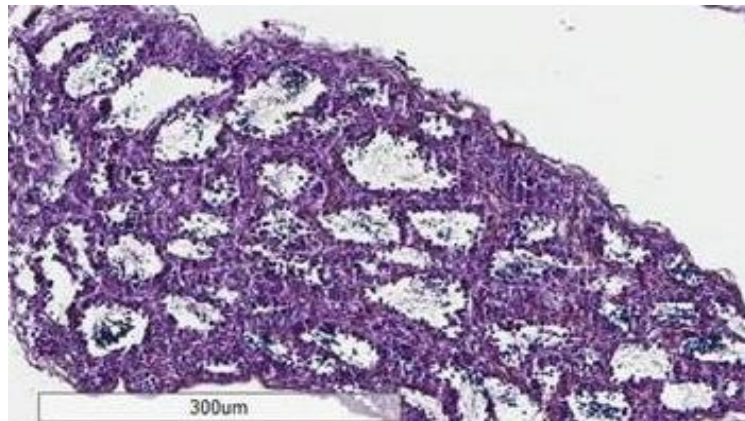


ภาพที่ 24 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมกเคอรินเขียวเพศผู้อายุ 12 เดือน น้ำหนัก 1.65 กรัม ความยาว 3.89 เซนติเมตร พบเสปิร์มระยะ spermatids ใน testis และ spermatozoa ใน lumens ของ tubules

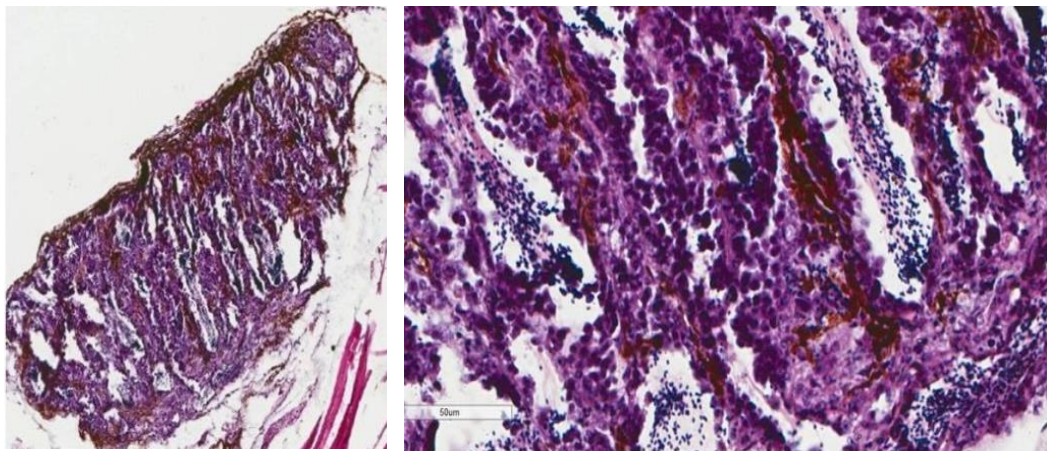


ภาพที่ 25 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมกเคอรินเขียวเพศผู้อายุ 15 เดือน น้ำหนัก 1.65 กรัม ความยาว 3.95 เซนติเมตร พบเสปิร์มระยะ spermatids ใน testis และ spermatozoa ใน lumens ของ tubules

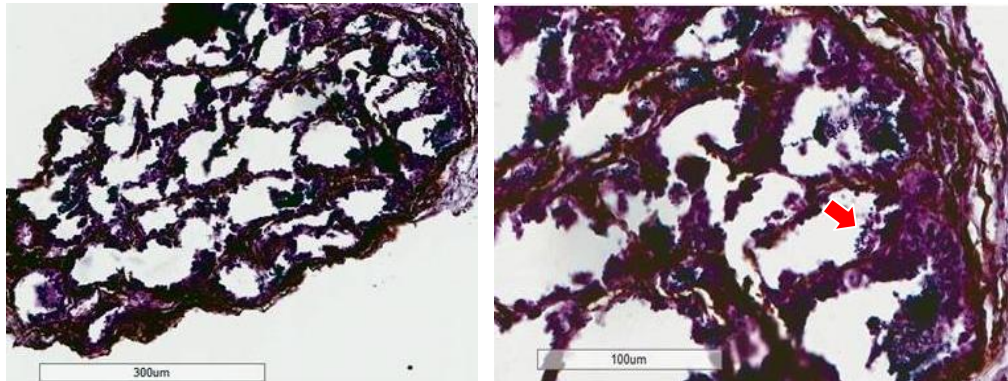




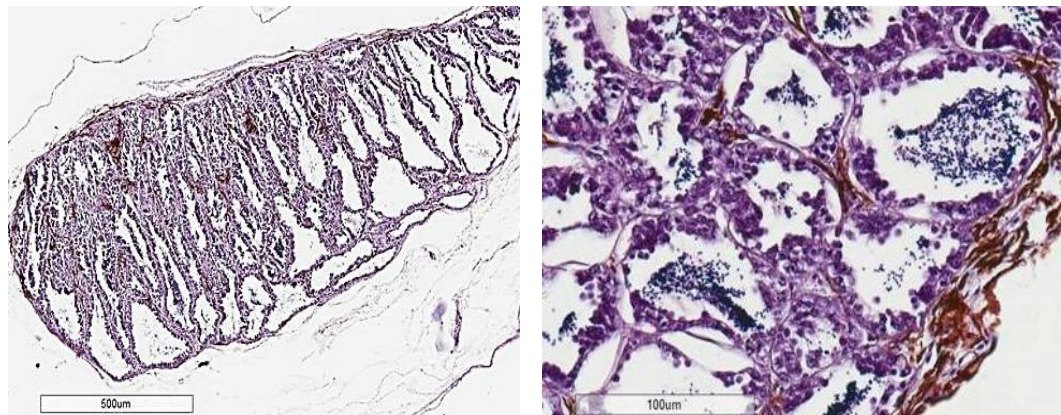
ภาพที่ 26 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมงดาจีนเขียวเพศผู้ อายุ 17 เดือน น้ำหนัก 1.78 กรัม ความยาว 3.05 เซนติเมตร พบเสปิร์มระยะ spermatids ใน testis และ spermatozoa ใน lumens ของ tubules



ภาพที่ 27 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมงดาจีนเขียวเพศผู้ อายุ 19 เดือน น้ำหนัก 1.13 กรัม ความยาว 3.35 เซนติเมตร พบเสปิร์มระยะ spermatids ใน testis และ spermatozoa ใน lumens ของ tubules



ภาพที่ 28 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 20 เดือน น้ำหนัก 1.17 กรัม ความยาว 3.29 เซนติเมตร พบเสปิร์มระยะ spermatids ใน testis และ spermatozoa ใน lumens ของ tubules



ภาพที่ 29 ลักษณะและพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ (testis) ของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้อายุ 24 เดือน น้ำหนัก 3.86 กรัม ความยาว 5.43 เซนติเมตร พบเสปิร์มระยะ spermatids ใน testis และ spermatozoa ใน lumens ของ tubules

## สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ ปลาแมนดารินเขียวที่เกิดจากการเพาะเลี้ยง (F1) เพศผู้มีน้ำหนักและความยาวมากกว่าปลาเพศเมียซึ่งสอดคล้องกับรายงานขนาดของปลาแมนดารินเขียวในธรรมชาติที่พบว่าปลาเพศผู้ใหญ่กว่าเพศเมีย (Rasotto et. al., 2010) ลักษณะที่ปลาเพศผู้มีขนาดลำตัวโตกว่าปลาเพศเมียนั้นเป็นลักษณะของปลา dragonets (Chang, 1951; Gibson and Ezzi, 1979) ซึ่งลักษณะที่ปลาเพศผู้มีขนาดใหญ่ มีครีบหลังและครีบกันยาวและสีส้มสวยงามกว่าปลาเพศเมียเป็นลักษณะของปลา dragonets (Nakabo 1983; Thresher 1984; Harrington 1997) ในการทดลองที่ 1 ปลาแมนดารินเขียวที่ให้กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัวตัว/ลิตร/ครั้งและให้กิน 2 ครั้ง/วัน จำนวน 1 คู่มีพฤติกรรมการผสมพันธุ์และปล่อยไข่ในตู้ทดลองเมื่อปลาอายุ 1 ปี 7 เดือน โดยทั่วไปเมื่อปลาเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ปลามีการเจริญเติบโตน้อยลงและเนื่องจากปลาแมนดารินเขียวคู่นี้มีพฤติกรรมการผสมพันธุ์ครั้งแรกก่อนสิ้นสุดการทดลอง 3 เดือน ดังนั้นขนาดของปลาแมนดารินเขียวเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ครั้งแรกจึงใกล้เคียงกับขนาดของปลาแมนดารินเขียวเมื่อสิ้นสุดการทดลองคือปลาแมนดารินเขียวเพศผู้มีน้ำหนัก 3.0 กรัมและความยาว 5.39 เซนติเมตรและปลาแมนดารินเขียวเพศผู้มีน้ำหนัก 3.70 กรัมและความยาว 5.54 เซนติเมตร ปลาแต่ละชนิดเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์มีขนาดแตกต่างกัน ปลา dragonet *C. lyra* เพศผู้วัยเจริญพันธุ์มีความยาวลำตัวประมาณ 120 มิลลิเมตรในขณะที่ปลา spotted dragonet *C. maculatus* เพศผู้วัยเจริญพันธุ์มีความยาวลำตัวประมาณ 50 มิลลิเมตร (Gibson and Ezzi, 1979) ในขณะที่ Sadovy et. al., (2001) รายงานว่าปลาแมนดารินเขียวธรรมชาติวัยเจริญพันธุ์มีความยาวประมาณ 30 มิลลิเมตร สำหรับอายุปลาในธรรมชาติที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์นั้นคาดเดาได้จาก Gibson and Ezzi (1979) รายงานว่าปลา spotted dragonet *C. maculatus* เพศผู้เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์และพร้อมผสมพันธุ์ครั้งแรกในอายุต่างๆกันซึ่งแตกต่างจากปลาชนิดเดียวกันเพศเมียเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ครั้งแรกปลาเพศเมียนั้นพร้อมที่จะสืบพันธุ์ในฤดูกาลแรกของการผสมพันธุ์

Sadovy et. al. (2001) รายงานว่าปลาแมนดารินเขียวในธรรมชาติกินแพลงก์ตอนสัตว์ทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่เป็นอาหารซึ่งพฤติกรรมการกินอาหารหลากหลายชนิดและหลายขนาดนั้นพบในปลา dragonet *C. maculatus* เช่นกัน (Gibson & Ezzi, 1979) ในการทดลองนี้ ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียทุกชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) แสดงว่าอัตราการให้กินอาร์ทีเมียขนาดใหญ่ อาร์ทีเมียขนาดเล็กหรืออาร์ทีเมียผสมกันนั้นเพียงพอต่อการกินอาหารของปลาแมนดารินเขียว 1 คู่ต่อวันและปลาแมนดารินเขียวใช้ประโยชน์จากอาร์ทีเมียทั้งขนาดเล็กและใหญ่ได้ดีไม่ต่างกัน ม้าน้ำ Short-Snouted Seahorse *Hippocampus hippocampus* ที่เลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียและไม่ผสมพบว่าม้าน้ำมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน (Otero-Ferrer et. al., 2012) แต่อย่างไรก็ตามในชุดการทดลองที่ให้กินอาร์ทีเมียผสมกันสองขนาดพบว่าปลาแมนดารินเขียวเลือกกินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่มีขนาดใหญ่ก่อนอาร์ทีเมียแรกเกิดที่มีขนาดเล็กแต่มีปริมาณมากกว่าแสดงว่าขนาดของอาหารมีผลต่อพฤติกรรมการเลือกกินอาหารของปลาแมนดารินมากกว่าความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร ปัจจัยการมองเห็นอาหาร (Janssen, 1997; Ryer & Olla 1999; Holzman & Genin, 2003 Juanes et. al., 2002) และขนาดของอาหารที่เหมาะสมกับขนาดปากปลา (Pandey et. al., 2008) มีผลโดยตรงต่อการกินอาหารของปลา ปลาอมไข่ *Apogon annularis* อาศัยในแนวปะการังเช่นเดียวกับปลาแมนดารินเขียวมีประสิทธิภาพการกินอาหารขนาดใหญ่สูงกว่าอาหารขนาดเล็ก(ประสิทธิภาพการกินอาหารคืออัตรา ส่วนการกินอาหารต่อโอกาสที่ปลาเจอและจับกินเหยื่อ) (Holzman and Genin, 2005) ปลา

เลือกที่จะกินเหยื่อขนาดใหญ่ที่เห็นได้ง่ายและให้พลังงานสูง (Eggers, 1982; Magnhagen, 1985; Mittelbach, 1981) นอกจากเหยื่อที่มีขนาดใหญ่ให้พลังงานมากกว่าเหยื่อขนาดเล็กแล้ว (Celino et al., 2012; Payne and Rippingale, 2000) ปลาใช้พลังงานในการล่าเหยื่อขนาดใหญ่น้อยกว่า เนื่องจากการล่าเหยื่อที่มีขนาดเล็กต้องกินในปริมาณหลายตัวเพื่อให้ได้พลังงานเพียงพอต่อความต้องการ (Dhont & Lavens, 1996) และการที่ปลาแมนดารินเขียวที่ให้กินอาร์ทีเมียขนาดใหญ่จำนวน 3 ตัวต่อลิตรมีแนวโน้มสามารถสืบพันธุ์ได้นั้นอาจเนื่องมาจากขนาดของอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยมีขนาดใหญ่และเหมาะสมกับขนาดปากของปลาแมนดารินเขียวจึงทำให้ปลาแมนดารินเขียวมองเห็นอาร์ทีเมียขนาดใหญ่ได้ง่ายกว่าอาร์ทีเมียแรกเกิดขนาดเล็ก นอกจากนี้ปลาแมนดารินเขียวใช้พลังงานในการล่าอาร์ทีเมียตัวใหญ่น้อยกว่าในขณะเดียวกันได้รับพลังงานจากอาร์ทีเมียตัวใหญ่ซึ่งมีผลมาจากสารอาหารที่ได้รับจากแพลงก์ตอนพืชและสะสมในอาร์ทีเมีย Dhont & Lavens (1996) รายงานว่าอาร์ทีเมียตัวใหญ่มีสารอาหารมากกว่าอาร์ทีเมียแรกเกิดและสะสมสารอาหารดีกว่าอาร์ทีเมียขนาดเล็กเนื่องมาจากประสิทธิภาพการรอกกินอาหารของอาร์ทีเมียตัวโตดีกว่าอาร์ทีเมียตัวเล็ก

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมหลายชนิดมีผลต่อการวางไข่ของปลาและปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการผสมพันธุ์ของปลาทะเลหลายชนิดที่อาศัยในสิ่งแวดล้อมต่างกันคืออุณหภูมิ ปลา dragonet *C. ornatipinnis* เป็นปลาอาศัยอยู่ในเขตน้ำอุ่นและจากการศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของปลาชนิดนี้ตั้งแต่เดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคมพบว่าปลาชนิดนี้ออกไข่เฉพาะเดือนกันยายนที่อุณหภูมิน้ำสูงกว่า  $19^{\circ}\text{C}$  (Awata et al., 2010) ส่วนปลา spotted dragonet *C. maculatus* มีพฤติกรรมการสืบพันธุ์ระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายน (Gibson and Ezzi, 1979) สำหรับปลาทะเลสวยงามที่อาศัยอยู่ในแนวปะการังในธรรมชาติ เช่น ปลาสีนสมุทรหลายชนิดผสมพันธุ์ออกไข่ตั้งแต่ฤดูฝนจนถึงฤดูร้อน (Collier et al., 2004; Lobel, 1978; Moyer and Nakazono, 1978; Olivotto et al., 2006) ปลาสีนสมุทร lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus* ที่เลี้ยงในที่กักขังออกไข่จำนวนมากที่สุดในฤดูร้อนและเมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงกว่า  $27^{\circ}\text{C}$  (Olivotto et al., 2006) ปัจจัยอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียวเช่นกันซึ่งในการทดลองที่ 1 ปลาแมนดารินเขียวเริ่มออกไข่ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายนซึ่งมีอุณหภูมิน้ำระหว่าง  $26-27^{\circ}\text{C}$  ในการทดลองที่ 2 ปลาแมนดารินเขียวออกไข่ในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายนและหยุดไปหลังจากนั้นปลาแมนดารินเขียวออกไข่อีกในเดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำมีค่าระหว่าง  $26-28^{\circ}\text{C}$  จึงอาจสรุปได้ว่าอุณหภูมิของน้ำไม่ต่ำกว่า  $26^{\circ}\text{C}$  และไม่สูงเกิน  $28^{\circ}\text{C}$  เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียวที่เลี้ยงในที่กักขัง นอกจากนี้ ระดับความลึกของน้ำมีผลต่อการสืบพันธุ์ของปลากลุ่ม dragonet เนื่องจากว่าปลาเหล่านี้มีพฤติกรรมว่ายน้ำขึ้นไปสู่ท้องน้ำเพื่อผสมพันธุ์และปล่อยไข่ Awata et al. (2010) รายงานว่าปลา Japanese ornate dragonet *C. ornatipinnis* ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงในการผสมพันธุ์และปล่อยไข่ในเวลาพลบค่ำ โดยปลาทั้งคู่ว่ายน้ำขึ้นไปสู่ท้องน้ำเหนือพื้นทราย 0.7–1.2 เมตร ในการทดลองครั้งนี้ตู้ทดลองมีระดับความสูงของน้ำ 50 เซนติเมตร และปลาแมนดารินเขียวสามารถผสมพันธุ์และไข่พัฒนาการฟักเป็นลูกปลาแสดงว่าระดับน้ำที่เลี้ยงปลาแมนดารินเขียวในที่กักขังควรมีความลึกอย่างน้อย 50 เซนติเมตร

ปัจจัยด้านคุณค่าทางอาหารในอาหารพ่อแม่พันธุ์ที่มีผลต่อผลผลิตที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายคือไขมัน ไขมันเป็นทั้งแหล่งพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตและแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำ สัตว์ทะเลต้องการกรดไขมันอีพีเอ (EFA) ในการสร้างเซลล์ (Sargent et al., 2002) และต้องการกรดไขมันเออาร์เอ (ARA) และดีเอชเอ (DHA) เพื่อการพัฒนาของไข่และตัวอ่อน (Bruce et al., 1999; Sorbera

et al., 2001) ตัวอย่างเช่น กรดไขมันอีพีเอมีความสำคัญต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลา gilthead seabream, *Sparus aurata* L. (Fernández-Palacios et al., 1995) ดังนั้น คุณภาพไข่ของปลาอละตัวอ่อนปลาจึงขึ้นกับคุณค่าสารอาหารจากแม่ปลามาสู่ไข่และตัวอ่อน (Izquierdo et al., 2000, 2001) ซึ่งเป็นสารอาหารที่พ่อแม่พันธุ์ได้รับจากอาหารที่กิน (Izquierdo et al., 2001) ปลาในทะเลแถบเมดิเตอร์เรเนียนต้องการกรดไขมันที่จำเป็นโซ่ยาวกลุ่มโอเมกา -3 (n-3 highly unsaturated fatty acid (n-3HUFA)) ในอาหารพ่อแม่พันธุ์ปลาทะเลประมาณ 0.64 ถึง 2.2 % (Izquierdo et al., 2001) จากรายงานของ Izquierdo et al. (2001) ที่รายงานว่าระดับกรดไขมันดีเอชเอที่เหมาะสมในอาหารปลาทะเลประมาณ 0.6-2.3% DHA ระดับกรดไขมันอีพีเอที่เหมาะสมประมาณ 0.7 - 2.3% และระดับกรดไขมันเออาร์เอที่เหมาะสมประมาณ 1% ปลาแต่ละชนิดมีความต้องการกรดไขมันที่จำเป็นในปริมาณแตกต่างกัน ปลา Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* ที่กินอาหารที่มีกรดไขมันในอาหารประมาณ 0.6% มีผลให้คุณภาพไข่ของปลาดีขึ้น (Temminck et Schlegel, 1846อ้างโดย Furuita et al., 2003) ปลาAtlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.) ที่กินอาหารมีส่วนผสมของกรดไขมันเออาร์เอ 1.8% พบว่าไข่ปลามีการผสมพันธุ์และอัตราการฟักเป็นตัวของลูกปลาสูงกว่าปลาในการทดลองเดียวกันที่กินอาหารที่มีกรดไขมันเออาร์เอในอาหารประมาณ 0.4% (Mazorra et al., 2003) พ่อแม่พันธุ์ปลา gilthead seabream ต้องการกรดไขมันดีเอชเอในอาหารประมาณ 0.6% DW และกรดไขมันอีพีเอประมาณ 1.2% (Fernández-Palacios et al., 1995) อัตราส่วนระหว่างกรดไขมันดีเอชเอ อีพีเอและเออาร์เอในอาหารมีบทบาทสำคัญที่ต้องคำนึงถึงเนื่องมาจากการแข่งขันในการสังเคราะห์กรดไขมันระหว่างกรดไขมันเหล่านี้ทำให้กรดไขมันส่วนเกินที่เหลือไปแทนที่กรดไขมันอื่นๆซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของไข่ (Izquierdo et al., 2000; 2001; Sargent et al., 2002) ในการศึกษาครั้งนี้ อาร์ทีเมียที่เสริมสารอาหารด้วยแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *N. oculata* มีกรดไขมันเออาร์เอและอีพีเอเป็นองค์ประกอบ 1% และ 3% ตามลำดับ ในขณะที่อาร์ทีเมียที่เสริมสารอาหารด้วยแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *I. galbana* มีกรดไขมันเออาร์เอเท่ากับอาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *N. oculata* แต่มีกรดไขมันอีพีเอเป็นองค์ประกอบ 2% ซึ่งน้อยกว่าอาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *N. oculata* การที่อาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *I. galbana* มีกรดไขมันอีพีเอน้อยกว่าอาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *N. oculata* เนื่องมาจากแพลงก์ตอนพืช *T. gracilis* และ *N. oculata* มีกรดไขมันอีพีเอเป็นองค์ประกอบ (Pratoomyot et al., 2005; Jaritkhuan and Chomrung, 2007; Praiboon et al., 2012) แต่แพลงก์ตอนพืช *I. galbana* มีกรดไขมันอีพีเอเป็นองค์ประกอบน้อยมาก (Chomrung et al., 2007) ดังนั้นกรดไขมันอีพีเอในอาร์ทีเมียที่กินแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *T. gracilis* และ *I. galbana* ได้มาจากแพลงก์ตอนพืช *T. gracilis* เป็นหลัก

วิธีการเสริมสารอาหารในอาร์ทีเมียด้วยแพลงก์ตอนพืชผสมกันทำให้มีกรดไขมันเออาร์เอและอีพีเอสะสมในอาร์ทีเมีย 1% และ 2-3% ตามลำดับและปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมีย 3-4 ตัว/ลิตร/ครั้ง 2 ครั้งต่อวันให้ผลผลิตไข่ แต่ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมีย 2 ตัว/ลิตร/ครั้งหรือกินอาหารเม็ดไม่มีพฤติกรรมการผสมพันธุ์หรือออกไข่ ปลาแมนดารินเขียวมีพฤติกรรมการออกไข่เป็นระยะคือออกไข่ติดต่อกัน 1-2 วัน (การทดลองที่ 1) หลังจากนั้นเว้นช่วงการออกไข่ 1-3 สัปดาห์ก่อนที่ให้ผลผลิตไข่ครั้งต่อไป การทดลองที่ 1 ปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ลิตร/ครั้งให้ผลผลิตไข่ระหว่าง 48 - 253 ใบ (ผลผลิตเฉลี่ย  $151.40 \pm 70.91$ ) ไข่ปลาแมนดารินเขียวมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย

0.78 ± 0.02 มิลลิเมตร ในการทดลองที่ 2 ปลาแมนดารินที่กินอาร์ทีเมียในอัตราเดียวกันนี้ให้ผลผลิตในสามครั้งแรก 24-46 ใบ ส่วนปลาแมนดารินเขียวที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้ง ให้ผลผลิตไข่ 24-263 ใบ จำนวนไข่ที่ปลาแมนดารินเขียวที่ศึกษาในครั้งนี้มีปริมาณใกล้เคียงกับจำนวนไข่ปลาแมนดารินเขียวธรรมชาติซึ่ง Sadovy et. al. (2001) รายงานว่ามีจำนวนไข่ในแต่ละครั้งของการออกไข่ประมาณ 12 - 205 ใบ และไข่มีขนาดประมาณ 0.7 - 0.8 มิลลิเมตร จึงอาจจะสรุปได้ว่าการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาแมนดารินเขียวในตู้บรรจุน้ำทะเล 180 ลิตรและเลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยที่เสริมแพลงก์ตอนพืชผสมที่ใช้ระหว่าง *T. Gracilis* และ *I. galbana* หรือ *T. gracilis* และ *N. oculata* ในอัตราอย่างน้อย 3 ตัว/ลิตร/ครั้งมีกรดไขมันเออาร์เอและอีพีเอประมาณ 1% และ 2-3% ตามลำดับ ซึ่งอาจเพียงพอต่อความต้องการและทำให้ปลาแมนดารินเขียวให้ผลผลิตได้ อย่างไรก็ตาม ในการทดลองที่ 1 วิธีการเสริมสารอาหารด้วยวิธีนี้ไม่มีการสะสมกรดไขมันดีเอชเอในอาร์ทีเมียดังนั้นจึงควรศึกษาวิธีการเสริมกรดไขมันในอาหารด้วยวิธีอื่นๆ เพื่อให้มีการสะสมของกรดไขมันทั้งสามชนิดนี้และทำการทดลองต่อไป

ระบบสืบพันธุ์ของปลาที่เลี้ยงในที่กักขังมักทำงานผิดปกติซึ่งต่างกับระบบสืบพันธุ์ของปลาในธรรมชาติ ปัญหาที่พบทั่วไปในปลาที่เลี้ยงในที่กักขังคือปลาเพศเมียไม่สามารถสร้างไข่ไปจนถึงระยะไข่สุกได้ (oocyte maturation) ในขณะที่ปัญหาที่พบในปลาเพศผู้ปลาคือการลดลงของคุณภาพและปริมาณสเปิร์ม (Zohar & Mylonas 2001; Mylonas et al. 2010) คุณภาพของสเปิร์มและคุณภาพของไข่ มีผลโดยตรงกับผลคุณภาพของไข่และผลผลิตดังเช่นที่พบในรายงานในปลาทะเลชนิดอื่นๆ เช่น ม้าน้ำ (Dzyuba et. al., 2006; Fernández-Palacios et. al., 2011; Wong and Benzie 2003) และปลาสินสมุทร (Callan et. al., 2014) ซึ่งปัญหาเหล่านี้ของพ่อแม่ปลาทะเลเป็นผลต่อเนื่องมาจากปัจจัยสารอาหารที่พ่อแม่พันธุ์ได้รับ (Callan et. al., 2014; Carcupino et. al., 2002; Foster and Vincent, 2004) มีรายงานในปลากระพงแดง red snapper (*Lutjanus campechanus*) ในการศึกษาครั้งนี้ไข่ของปลาแมนดารินเขียวในการทดลองครั้งที่ 1 มีคุณภาพดีขึ้นตามจำนวนครั้งการออกไข่โดยเฉพาะในช่วงก่อนสิ้นสุดการทดลองโดยมีอัตราการฟักเป็นตัวลูกปลา 100 เปอร์เซ็นต์แสดงว่าคุณภาพไข่สัมพันธ์กับจำนวนครั้งการออกไข่ แต่ความสัมพันธ์ของจำนวนไข่และคุณภาพไข่ไม่สัมพันธ์กับจำนวนครั้งการออกไข่ แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตไข่ปลาแมนดารินเขียวที่ได้จากการทดลองที่ 2 พบว่าผลผลิตไข่ทั้งหมดเป็นไข่เสียซึ่งระยะเวลาที่ปลาแมนดารินเพศเมียวัวออกไข่เป็นช่วงเวลาทั้งก่อนและหลังที่ปลาเพศผู้ที่อยู่ในตู้เดียวกันตายซึ่งมีสาเหตุมาจากอุณหภูมิน้ำลดลงกระทันหัน ดังนั้น กรณีของปลาแมนดารินเขียวในการศึกษาครั้งนี้ที่มีพฤติกรรมการผสมพันธุ์ปล่อยไข่และมีไข่เสียเป็นจำนวนมาก ซึ่งอาจเนื่องมาจาก 1) ไข่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์หรือไข่ไม่พัฒนาซึ่งเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลา 2) ไข่ไม่ได้ผสมพันธุ์กับสเปิร์มเช่นเดียวกับที่มีรายงานในปลากระพงแดง (Bardon-Albaret et al, 2015) ซึ่งผลการทดลองในปีที่ 2 พบว่าหลังจากปลาเพศผู้ที่อยู่ในตู้เดียวกันตายไปปลาเพศเมียที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 4 ตัว/ลิตร/ครั้งยังให้ผลผลิตไข่อย่างต่อเนื่องอีก 5 ครั้งจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองแสดงว่าเมื่อไข่ (oocytes) ของปลาแมนดารินเขียวสามารถพัฒนาจนถึงระยะไข่สุกและปลาปล่อยไข่สู่ภายนอกได้โดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจากปลาแมนดารินเขียวเพศผู้ให้ออกไข่ พฤติกรรมการออกไข่โดยไม่มีปลาเพศผู้อาจเป็นไปได้ว่าปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิในเวลานั้นๆเหมาะสมและกระตุ้นให้ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียปล่อยไข่เช่นเดียวกับที่มีรายงานการวิจัยในปลาทะเลชนิดอื่นๆ ที่พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งในการกระตุ้นให้มีการผสมพันธุ์และออกไข่ (Collier et. al.,

2004; Lobel, 1978; Moyer & Nakazono, 1978; Olivotto et. al., 2006; Olivotto et. al., 2006)

เนื่องจากปลาแมนดารินเขียว (F1) ที่เพาะเลี้ยงได้มีจำนวนน้อยจึงไม่สามารถเก็บตัวอย่างปลามาศึกษาพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์โดยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยาในปริมาณมากได้ ในครั้งนี้ทำการศึกษาพัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขียวอายุ 6 เดือน 12 เดือน 15 เดือน 17 เดือน 19-20 เดือนและ 24 เดือนจำนวน 1 คู่ และจากผลการศึกษาพบว่าพบไข่ (oocytes) ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียพัฒนาเข้าสู่ระยะสะสมไข่แดง (vitellogenic oocytes) เมื่อปลามีอายุตั้งแต่ 17 เดือนขึ้นไป แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบไข่ในระยะไข่สุก (maturation oocytes) หรือระยะตั้งน้ำ (hydrated oocytes) เข้าไปในไข่ก่อนที่จะถูกปล่อยออกมา ซึ่งการศึกษาพัฒนาการนี้สอดคล้องกับผลการทดลองทั้งสองการทดลองที่พบว่าปลาแมนดารินเขียวที่เลี้ยงในตู้บรรจุน้ำทะเล 180 ลิตรที่ให้อาหารที่เมื่อยอย่างน้อย 3 ตัว/ลิตร /ครั้ง มีพฤติกรรมในการสืบพันธุ์เมื่อปลาอายุไม่ต่ำกว่า 19 เดือน แต่อย่างไรก็ตาม ในการทดลองนี้ยังมีปลาแมนดารินเขียวหลายคู่ที่ไม่มีพฤติกรรมการออกไข่ประกอบกับผลจากการศึกษาพัฒนาการของไข่ (oocytes) แต่ละระยะพบว่า พัฒนาการของไข่ (oocytes) ปลาแมนดารินเขียวเพศเมียอายุ 24 ปีพัฒนา น้อยกว่าไข่ของปลาแมนดารินเขียวที่มีอายุระหว่าง 17 เดือน 19 เดือนและ 20 เดือนถึงแม้ว่าปลาแมนดารินเขียวอายุ 24 ปี มีน้ำหนักและความยาวมากกว่า ดังนั้น นอกจากปัจจัยด้านสารอาหารที่มีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลาแล้ว ปัจจัยทางด้าน genetics การเจริญเติบโต การสะสมพลังงาน (ไขมัน) และปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ เช่น ระยะเวลาที่ให้แสงสว่าง (photoperiod) อุณหภูมิ และ social factors มีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ด้วยเช่นกัน (Bayarri et al., 2009; Okuzawa and Gen, 2013; Taranger et al., 2010).

จากการศึกษาพัฒนาการของไข่ (oocytes) ปลาแมนดารินเขียวพบว่าในรังไข่ของปลาแมนดารินเขียวมีไข่ที่มีพัฒนาหลายระยะรวมกัน จึงสอดคล้องกับปริมาณไข่ปลาแมนดารินที่ปลาปล่อยออกมาในแต่ละครั้งของการออกไข่มีจำนวนแตกต่างกันไปขึ้นกับจำนวนไข่สุก (maturation oocytes) ที่มีในเวลานั้นๆ พฤติกรรมที่ปลาแมนดารินเขียวที่ออกไข่และหยุดพักเป็นระยะๆก่อนที่จะออกไข่อีกครั้งเนื่องมาจากปลาแมนดารินต้องสะสมอาหารให้มากเพียงพอต่อพัฒนาของไข่ (oocytes) ผลจากการศึกษาพัฒนาการของไข่ (oocytes) ในการทดลองที่ 2 พบว่าไข่ของปลาที่กินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3-4 ตัว/ลิตร/ครั้ง มีพัฒนาการระยะสะสมไข่แดง (vitellogenic oocytes) มากกว่าปลาที่กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปและกินอาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ลิตร/ครั้งและไข่ทั้งหมดเป็นไข่เสีย นอกจากนี้ผลการศึกษาเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยายังพบว่าไข่มีรูปร่างลักษณะผิดปกติซึ่งแตกต่างจากไข่ปลาแมนดารินเขียวในการทดลองที่ 1 ซึ่งในระยะแรกเป็นไข่ที่คุณภาพไม่ดี (เปอร์เซ็นต์ไข่เสียมากกว่าไข่ดี) และในระยะต่อมาไข่มีคุณภาพดีขึ้น (เปอร์เซ็นต์พัฒนาเป็นตัวมากขึ้น) ซึ่งอาจเนื่องมาจากปลาเพศผู้มีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำกว่าปลาเพศเมีย ถึงแม้ว่าจากการศึกษาพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ทางเทคนิควิทยาของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้พบสเปิร์มในระยะ active แต่อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องในการกระตุ้นหรือยับยั้งการผลิต/การปล่อยสเปิร์มของปลาเพศผู้ ซึ่งกลไกในการยั้งยั้งไม่ให้ไข่สุกหรือไม่ให้มีการผลิตสเปิร์มในปลานั้นเกี่ยวข้องกับการไม่มีฮอร์โมน gonadotropin ที่ผลิตจากต่อมใต้สมอง pituitary gland มากกระตุ้นให้ไข่สุกหรือผลิตสเปิร์ม (Zohar & Mylonas 2001) ในปลาหลายๆชนิดได้มีการแก้ไขปัญหานี้โดยการใช้ฮอร์โมน Luteinising hormone-releasing hormone (LHRH) agonists และพบว่าสามารถใช้ฮอร์โมนเหล่านี้ในการกระตุ้นให้ไข่ปลาเข้าระยะไข่สุก (ไข่แก่)และกระตุ้นให้ปล่อย

ไข่ได้ (Phelps et al., 2009) ซึ่งในลักษณะเดียวกันนี้ถ้านำการใช้ฮอร์โมนเหล่านี้ใช้ในปลาแมนดารินเขียวเพศก็อาจจะช่วยเพิ่มคุณภาพและผลผลิตของปลาแมนดารินเขียวได้เช่นกัน

พฤติกรรมการออกไข่ของปลามีทั้งการออกไข่แบบครั้งเดียวกันทั้งหมด (total spawners) และออกไข่หลายครั้ง (multiple spawners) พฤติกรรมการปล่อยไข่ทั้งหมดในคราวเดียวกันนี้ ไข่ (oocytes) ในรังไข่ทั้งหมดพัฒนาการพร้อมกันและไข่ระยะไข่สุกจะถูกปล่อยออกมาคราวเดียวกัน (Miranda et al., 1999; Tyler and Sumpter (1996) ในขณะที่ปลาที่มีพฤติกรรมออกไข่หลายครั้ง ไข่ (oocytes) ในรังไข่มีพัฒนาการหลายระยะเกิดขึ้นในเวลาเดียวกัน (asynchronous oocyte development) และเฉพาะไข่ระยะไข่สุก (maturation oocytes) เท่านั้นที่ถูกปล่อยออกมาในปริมาณน้อย (Wallace and Selman 1981; Tyler and Sumpter (1996) ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาแมนดารินเขียวเป็นปลาที่มีการออกไข่หลายครั้งซึ่งพฤติกรรมแบบนี้พบในปลาที่ออกไข่เป็นไข่ลอยน้ำ เช่นปลา northern anchovy (Hunter and Goldberg 1980) และสาเหตุที่ปลามีพฤติกรรมออกไข่เป็นชุดและออกไข่หลายครั้งเพื่อเป็นการเพิ่มอัตราการรอดตายของลูกปลา (Lambert and Ware, 1984)

ลูกปลาทะเลที่เกิดจากไข่ลอยน้ำ (pelagic-spawned larvae) มีขนาดเล็กและเป็นระยะที่อ่อนแอมาก ลูกปลาที่เกิดจากไข่ชนิดลอยน้ำเมื่อแรกฟักมีพัฒนาการไม่สมบูรณ์ (prolarvae) โดยระบบทางเดินอาหารหรือปากและสีของตัวยังไม่พัฒนา มีถุงไข่แดงที่เป็นอาหารสำรองขนาดใหญ่ (Olivotto et. al., 2011) ลักษณะที่ลูกปลาแรกเกิดอยู่ในระยะ prolarvae นี้เป็นลักษณะที่พบในปลาแมนดารินเขียวและพบในปลา dragonet ชนิดอื่นๆ (Eda et. al., 1997; Takita 1983; Eda et. al., 1994a,b) ลูกปลาแมนดารินเขียวอายุ 6 ชั่วโมงมีความยาวลำตัวทั้งหมดประมาณ  $1.28 \pm 0.49$  มิลลิเมตรใกล้เคียงกับลูกปลา dragonet *Paradiplogrammus enneactis* แรกเกิดมีขนาดความยาวลำตัวทั้งหมด  $1.18 + 0.03$  มิลลิเมตร (Eda et. al., 1997) ลูกปลา dragonet *Repomucenus richardsonii* และ *R. valenciennesi* แรกเกิดมีขนาดความยาวลำตัวทั้งหมด  $1.17 + 0.04$  มิลลิเมตรและ  $1.11 + 0.03$  มิลลิเมตร (Eda et. al., 1994b) ลูกปลา *R. beniteguri* แรกเกิดมีขนาดความยาวลำตัวทั้งหมด  $1.18 + 0.03$  มิลลิเมตร (Eda et. al., 1994a) แต่อย่างไรก็ตาม พัฒนาการของอวัยวะระบบทางเดินอาหารจากลูกปลาแรกเกิดจนกระทั่งลูกปลามีระบบทางเดินอาหารมีครบถ้วนยังไม่ได้ศึกษาในการทดลองครั้งนี้



## ข้อเสนอแนะ (Suggestions)

การวิจัยนี้ยังได้ตอบคำถามเบื้องต้นว่าสามารถเลี้ยงปลาแมนดารินเขี้ยวด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปเพื่อทดแทนอาหารมีชีวิตเพื่อการเจริญเติบโตได้แต่การเลี้ยงด้วยปลาแมนดารินเขี้ยวด้วยอาหารเม็ดยังไม่สามารถทำให้ปลาแมนดารินเขี้ยวให้ผลผลิตไข่ปลาได้ถึงแม้ว่าผลการศึกษาค้นคว้าพัฒนาการระบบสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขี้ยวพบว่าปลาแมนดารินเขี้ยวเพศเมียมีไข่ที่มีระยะสะสมไข่แดง (vitellogenic oocytes) ซึ่งเป็นระยะเดียวกับที่พบในไข่ของปลาแมนดารินเขี้ยวที่มีอาร์ทีเมียกินตลอดเวลา (3-4 ตัว/ลิตร/ครั้ง) แต่ปลาที่กินอาร์ทีเมียให้ผลผลิตไข่แต่ในปลาที่กินอาหารเม็ดไม่พบพฤติกรรมการออกไข่ ดังนั้นจึงควรที่จะต้องศึกษาเพิ่มเติมในการเสริมสารอาหารที่เหมาะสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปโดยเฉพาะองค์ประกอบกรดไขมันที่จำเป็นที่มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลา เช่น กรดไขมันดีเอชเอ อีพีเอและเออาร์เอ นอกจากนี้ยังพบว่าไข่ปลาแมนดารินเขี้ยวที่พัฒนาอยู่ในระยะ vitellogenic oocytes และสเปิร์มปลาที่อยู่ในระยะ spermatozoa แล้วแต่ไม่พบพฤติกรรมการผสมพันธุ์ออกไข่ของปลาแมนดารินเขี้ยวซึ่งเป็นข้อเสนอแนะที่ควรจะต้องทำการวิจัยเรื่องปัจจัยที่กระตุ้นให้ไข่ที่พัฒนาและอยู่ในระยะสะสมไข่แดงแล้วสามารถพัฒนาต่อไปเป็นไข่ในระยะไข่สุก (maturation) และกระตุ้นให้ปลาปล่อยไข่หรือกระตุ้นให้ปล่อยเปิร์มต่อไป

## ผลผลิต (Output)

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับชาติ

จารุพันธ์ ประทุมยศ สุพรรณิ ลีโทชวลิต ณิชชา ศิรินนัทธนา และ ศิริวรรณ ชูศรี 2559 การศึกษาเบื้องต้นของคุณค่าทางอาหารของอาร์ทีเมียที่เสริมด้วยแพลงก์ตอนพืชและผลต่อการสืบพันธุ์ของปลาแมนดารินเขี้ยว (*Synchiropus splendidus* Herre, 1927) วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 21 (ฉบับที่ 2) หน้า 152-165

## เอกสารอ้างอิง

- Amundsen, P. A. 1994. Piscivory and cannibalism in Arctic charr. *Journal of Fish Biology* 45 (Suppl. A), 181–189. doi: 10.1111/j.1095-8649.1994.tb01092.x
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis* 17th ed. Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, Maryland.
- Awata, S., Kimura, M. R., Sato, N., Sakai, K., Abe, T. and Munehara, H. 2010. Breeding season, spawning time, and description of spawning behaviour in the Japanese ornate dragonet, *Callionymus ornatipinnis*: a preliminary field study at the northern limit of its range. *Ichthyology Research* (2010) 57:16–23  
DOI 10.1007/s10228-009-0116-z.
- Bardon-Albaret, A., Brown-Peterson, N. J. Lemus, J. T., Apeitos, A. and Saillant, E. A. 2015. A histological study of gametogenesis in captive red snapper *Lutjanus campechanus* *Aquaculture Research* 46: 901–908.
- Bayarri, M.J., Zanuy, S., Yilmaz, O., Carrillo, M., 2009. Effects of continuous light on the reproductive system of European seabass gauged by alterations of circadian variations during their first reproductive cycle. *Chronobiol. Int.* 26, 184–199.
- Brown-Peterson N.J., Wyanski D.M., Saborido-Rey F., Macewicz B.J. & Lowerre-Barbieri S.K. (2011) A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries* 3, 52–70.
- Bruce, M., Oyen, F., Bell, J., Asturiano, J. F., Farndale, B. and Carillo, M. 1999. Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acids to reproductive performance. *Aquaculture*, 177, 85–97.
- Callan, C. K., Laidley C. W., Kling, L. J., Breen, N. E. and Rhyne, A. L. 2014. The effects of dietary HUFA level on flame angelfish (*Centropyge loriculus*) spawning, egg quality and early larval characteristics. *Aquaculture Research* 45, 1176–1186
- Cantanhêde, G., Fugi, R. and Hahn, N. S. 2009. Variation in prey selection of a piscivorous fish after the impoundment of a neotropical reservoir: prey size and type. *Journal of Fish Biology* 75, 75–86 doi:10.1111/j.1095-8649.2009.02264.x.
- Carcupino, M., Baldacci, A., Mazzini, M. and Franzoi, P. 2002. Functional significance of the male brood pouch in the reproductive strategies of Pipefishes and seahorses: a morphological and ultrastructural comparative study on three anatomically different pouches. *Journal of Fish Biology* 61:1465–1480.
- Celino, F.T., Hilomen-Garcia, G.V., Norte-Campos, A.G.C., 2012. Feeding selectivity of the seahorse, *Hippocampus kuda* (Bleeker), juvenile under laboratory conditions. *Aquaculture Research* 43, 1804 - 1815.

- Chang, M. and Southgate, P. C. 2001. Effects of varying dietary fatty acid composition on growth and survival of seahorse, *Hippocampus* sp., juveniles. *Aquarium Sciences and Conservation* 3:205–214.
- Charnov, E.L. 1976. Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology* 9:129-136.
- Chomrung, A., Pratoomyot, J., Srivilas, P. and Muthuwon, V. 2007. Effects of nitrogen concentrations on biochemical composition of cultured microalgae *Isochrysis galbana* growth and survival rate of anemonefish (*Amphiprion ephippium*). *Journal of Scientific Research Chulalongkorn University, Section T* (6) (special issue 1), 339-347.
- Christie, W.W. 1993. Preparation of derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. In W.W. Christie, (Ed.). *Advances in Lipid Methodology Two* (pp. 69-111). The Oily Press, U.K.
- Cunha, I., Planas, M., 1999. Optimal prey size for early turbot larvae *Scophthalmus maximus* L. based on mouth and ingested prey size. *Aquaculture* 175, 103–110.
- Chang, H. W. 1951. Age and growth of *Callionymus lyra* L. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 30, 281-296.
- Collier, J. T., Kaneko, T., Hirano, T., Grau, E. G. 2004. Seasonal changes in reproductive activity in Potter's angelfish (*Centropyge potteri*) in Kaneohe Bay, Hawaii. *Environmental Biology of fishes*. 68, 49–57.
- Dendrinis, P., Dewan, S., Thorpe, J. P. 1984. Improvement in the feeding efficiency of larval, post larval and juvenile dover sole (*Solea solea* L.) by the use of a staining to improve the visibility of *Artemia* used as food. *Aquaculture* 38, 14–137.
- Dzyuba, B., Van Look, K. J. W., Cliffe, A., Koldewey, H, and Holt, W. V. 2006. Effect of parental age and associated size on fecundity, growth and survival in the yellow seahorse, *Hippocampus kuda*. *Journal of Experimental Biology* 209:3055–3061.
- Dhont, J. and Lavens, P. 1996. Tank production and use of ongrown *Artemia*. In: *Manual in the production and use of live food for aquaculture*, Lavens, P. and Sorgeloos, P. (eds.). *FAO fisheries technical paper no 361*. 137-163 pp.
- Eda, H., Fujiwara, T., Kuno, Y. and Takita, T. 1997. Larval and juvenile development of the dragonet, *Paradiplogrammus enneactis*, reared in a laboratory. *Ichthyology Research* 44 (1): 77-81.
- Eda, H., Fujiwara, T. and Takita, T. 1994a. Embryonic, larval and juvenile development in laboratory-reared dragonets, *Repomucenus beniteguri*. *Japan Journal of Ichthyology* 40(4): 465-473.

- Eda, H., Takita, T. and Uno, Y. 1994b. Larval and juvenile development of two dragonets, *Repomucenus richardsonii* and *R. valenciennesi*, reared in a laboratory. *Japan Journal of Ichthyology* 41(2): 149 – 158.
- Eggers, D.M. 1977. The nature of prey selection by planktivorous fish. *Ecology* 58:46–59. doi:10.2307/1935107.
- Eggers, D.M. 1982. Planktivore preference by prey size. *Ecology* 63: 381–390, doi:10.2307/1938956
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. and Vergara, J. 1995. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 132, 325-337.
- Fernández-Palacios, H., Norberg, G., Izquierdo, L.M. and Hamre, K. 2011. Broodstock diets on eggs and larvae. In J. Holt. (Ed.). *Larval Fish Nutrition* (pp.153–183). Wiley-Blackwell, John Wiley and Sons, London, UK.
- Floeter, J. and Temming, A. 2003. Explaining diet composition of North Sea cod (*Gadus morhua*): prey size preference vs. prey availability. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 60, 140–150
- Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- .Forteath, N. 1997. The large bellied seahorse, *Hippocampus abdominalis*, a candidate for aquaculture. *Austrasia Aquaculture* 11:52–54.
- Foster, S. J. and Vincent, A. C. J. 2004. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. *Journal of Fish Biology* 65:1–61.
- Furuita, H., Yamamoto, T., Shima, T., Suzuki, N. and Takeuchi, T. (2003). Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 220, 725–735.
- Gibson, R. N. and Ezzi, I. A. 1979. Aspects of the biology of the spotted dragonet *Callionymus maculatus* Rafinesque-Schmaltz from the west coast of Scotland. *Journal of Fish Biology* 15: 555-569.
- Gonzales, B.J., Okamura, O. and Taniguchi, N. 1996. Spawning behavior of laboratory-reared dragonet, *Repomucenus huguenini*, and development of its eggs and prolarvae. *Suisanzoshoku* 44, 7–15.
- Griffin, R., Pearce, B. and Handy, R. D. 2012. Dietary preference and feeding selectivity of Common dragonet *Callionymus lyra* in U.K. *Journal of Fish Biology* 81, 1019–1031. doi:10.1111/j.1095-8649.2012.03375.x.
- Griffiths, D. (1975). Prey availability and food of predators. *Ecology* 56, 1209–1214.

- Grier H.J., Uribe-Aranzabel M.C. & Patino R. (2009) The ovary, folliculogenesis and oogenesis in teleosts. In: Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Agnathans and Bony Fishes) Volume 8A (ed. by B.G.M. Jamieson), pp. 24–84. Sciences Publishers, Enfield, NH, USA.
- Hamoutene, D., Lush, L., Perez-Casanova, J.C., Hobbs, K., Burt, K., Walsh, A. and Moir, J. 2013. Effect of diet on growth, survival and reproductive performance of first generation (F1) Atlantic cod, *Gadus morhua* L. broodstock. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 3026:1-21.
- Harrington, M.E. 1997. Behavior patterns and sexual dimorphism in the spotted dragonet, *Diplogrammus pauciradiatus* (Pisces:Callionymidae). Bull Mar Sci 60:872–893.
- Holmes, R.A. and Gibson, R.N. 1986. Visual cues determining prey selection by turbot, *Scophthalmus maximus* L. Journal of Fish Biology 29, 48–58.
- Holzman, R. and Genin, A. 2005. Mechanisms of selectivity in a nocturnal fish: a lack of active prey choice. Oecologia (2005) 146: 329–336. doi 10.1007/s00442-005-0205-2.
- Holzman, R. and Genin, A. 2003. Zooplanktivory by a nocturnal coral reef fish: Effects of light, flow, and prey density. Limnology Oceanography 48:1367–1375.
- Howard, A.W. and Smith, C.S. 1983. Histological techniques for marine bivalve mollusks. NOAA Technical Memorandum NMFS-F/NEC-25, Woods Hole.
- Hunter, J. R. and Leong, R. J. H. 1981. The spawning energetics of female northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull. U. S. 79, 215-230.
- Hyvärinen, P. and Huusko, A. 2006. Diet of brown trout in relation to variation in abundance and size of pelagic fish prey. Journal of Fish Biology 68, 87–98. doi: 10.1111/j.1095-8649.2005.00879.x
- Izquierdo, M.S., Fernandez-Palacios H. and Tacon A.G.J. 2001. Effect of broodstock Nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197, 25–42.
- Izquierdo, M.S., Socorro, J., Arantzamendi, L. and Hernandez-Xruz, C.M. (2000). Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. Fish Physiology and Biochemistry, 22, 97-107.
- Janssen, J. 1997. Comparison of response distance to prey via the lateral line in the ruffe and yellow perch. Journal of Fish Biology 51:921–930.
- Jaritkhuan, S. and Chomrung, A. 2007. Effect of photoperiods on protein lipid and fatty acid content of *Nannochloropsis oculata*. Journal of Scientific Research Chulalongkorn University, Section T (6) (special issue 1), 331-338.
- Juanes, F., Buckel, J. A. and Scharf, F. S. 2002. Feeding ecology of piscivorous fishes. In Hart, P.J. B. & Reynolds, J. D. (eds). *Handbook of Fish Biology and Fisheries* Vol. 1. pp. 267–284. Oxford: Blackwell Publishing.

- Kruger, D. P., Britz, P. J. and Sales, J. 2001. The influence of livefeed supplementation on growth and reproductive performance of swardtail (*Xiphophorus helleri* Heckel, 1848). *Aquarium Science and Conservation* 3, 265- 273.
- Lambert, T. C. and Ware, D. M. 1984. Reproductive strategies of demersal and pelagic spawning fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41, 1565-1569.
- Lavens, P., Leger, P., and Sorgeloos, P. 1989. Manipulation of the fatty acid profile in *Artemia* offspring produced in intensive culture systems. In: N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackefors, N. Wilkins (Eds.). *Aquaculture - A Biotechnology in Progress* (pp 731-739). European Aquaculture Society, Bredene, Belgium.
- Lavens, P. and Sorgeloos, P. 1987. Design, operation, and potential of a culture system for the continuous production of *Artemia* nauplii. In: Sorgeloos, P., Bengtson, D., Declair, W. and Jaspers, E. (eds). *Artemia* Research and its Applications. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universa Press, Wetteren, Belgium. pp. 339-345.
- Lieske, E. and Myers, R. 1994. Collins pocket guide. Coral reef fishes. Indo-Pacific and Caribbean including the Red Sea. Haper Collins Publishers. 400 p.
- Lin, Q., Lu, J., Gao, Y., Shen, L., Cai, J. and Luo, J. 2006. The effect of temperature on gonad, embryonic development and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture* 254:701–713.
- Lin, Q., Gao, Y., Sheng, J. Chen, Q., Zhang, B. and Lu, J. 2007. The effects of food and the sum of effective temperature on the embryonic development of the seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture* 262(12):481–492.
- Lin, Q., Lin, J. and Zhang, D. 2008. Breeding and juvenile culture of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* Perry, 1810. *Aquaculture* 277:287–292.
- Lin, Q., Lin, J., Zhang, D. and Wang, Y. 2009. Weaning of juvenile seahorses *Hippocampus erectus* Perry, 1810 from live to frozen food. *Aquaculture* 292:224–229.
- Lobel, P.S., 1978. Diel, lunar and seasonal periodicity in the reproductive behavior of the pomacanthid fish, *Centropyge potteri*, and some other reef fishes in Hawaii. *Pac. Sci.* 32, 193– 207.
- Luquet, P. and Watanabe, T. 1986. Interaction “nutrition -reproduction” in fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 2(1–4):121–129.
- Magnhagen, C. 1985. Random prey capture or active choice? An experimental study on prey size selection in three marine fish species. *Oikos* 45: 206–216, doi:10.2307/3565707.
- Maszczyk, P. and Gliwicz, Z. M. 2014. Selectivity by planktivorous fish at different prey densities, heterogeneities, and spatial scales. *Limnology and Oceanography* 59(1), 68–78. doi:10.4319/lo.2014.59.1.0068.

- Mazorra, C., Bruce, M., Bell, J.G., Davie, A., Alorend, E. and Jordan, N. 2003. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 227, 21–33.
- Miranda, A.C.L., Bazzoli, N., Rizzo, E., and Sato, Y. 1999. Ovarian follicular atresia in two Teleost species: a histological and ultrastructural study. *Tissue and Cell*, 31, 480-488.
- Mittelbach, G. G. 1981. Foraging efficiency and body size: A study of optimal diet and habitat use by bluegills. *Ecology* 62:1370–1386, doi:10.2307/1937300.
- Mittelbach, G.G. and Persson, L. 1998. The ontogeny of piscivory and its ecological consequence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55, 1454–1465.
- Moyer, J.T. and Nakazono, A., 1978. Population structure, reproductive behavior and protogynous hermaphroditism in the angelfish *Centropyge interruptus* at Miyake-jima, Japan. *Japan Journal of Ichthyology* 25, 25– 39.
- Myers, R.F. 1999. Micronesian reef fishes: A comprehensive guide to the coral reef fishes of Micronesia, 3<sup>rd</sup> revised and expanded edition. Coral Graphics, Barrigada, Guam. 330 p.
- Mylonas, C., Fostier, A. and Zanuy, S. 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology* 165, 516–534.
- Nakabo, T. 1983. Revision of the dragonets (Pisces: Callionymidae) found in the waters of Japan. *Publication Seto Marine Biology Laboratory* 27:193–259.
- Neave, D.A., 1984. The development of visual acuity in larval plaice *Pleuronectes platessa* L. and turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 78, 167–175.
- O’Brien, W. J., Slade, N. A. and Vinyard, G. L. 1976. Apparent size as the determinant of prey selection by bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Ecology* 57: 1304–1310, doi:10.2307/1935055.
- Okuzawa, K. and Gen, K., 2013. High water temperature impairs ovarian activity and Gene expression in the brain–pituitary–gonadal axis in female red seabream during the spawning season. *Gen. Comp. Endocrinol.* 194, 24–30.
- Olivotto, I., Capriotti, F., Buttino, I., Avella, A. M., Vitiello, V., Maradonna, F. and Carnevali, O. 2008. The use of harpacticoid copepods as live prey for *Amphiprion clarkii* larviculture: effects on larval survival and growth. *Aquaculture* 274:347–352.
- Olivotto, I., Planas, M., Simões, N., Holt, G.J. and Avella, M.A., 2011. Advances in breeding and rearing marine ornamentals. *Journal of the World Aquaculture Society* 42, 135–166.

- Olivotto, I., Holt, S. A., Carnevali, O. and Holt, G. J. 2006. Spawning, early development, and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. *Aquaculture* 253, 270– 278.
- Olivotto, I., Zenobi, A., Rollo, A., Migliarini, B., Avella, A. M. and Carnevali, O. 2005. Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. *Aquaculture* 250:175–182.
- Olivotto, I., Tokle, N.E., Nozzi, V., Cossignani, L. and Carnevali, O., 2010. Preserved copepods as a new technology for the marine ornamental fish aquaculture: a feeding study. *Aquaculture* 30, 124–131.
- Otero-Ferrer, F., Molina, L., Socorro, J., Fernández-Palacios, H. and Izquierdo, M. 2012. Effect of different Live prey on spawning quality of short-snouted seahorse, *Hippocampus hippocampus* (Linnaeus, 1758). *Journal of the world aquaculture society* 43, 174-186.
- Payne, M. F. and Rippingale, R. J. 2000. Rearing West Australian seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched *Artemia*. *Aquaculture* 188:353–361.
- Paxton, J.R. and Eschmeyer, W.N. 1998. *Encyclopedia of fishes*, 2nd edition. Academic Press, San Diego, California. 240 p.
- Pedrazzania, A. S., Phama, N. K., Lina, J. and Netob, A. O. 2014. Reproductive behavior, embryonic and early larval development of the red head goby, *Elacatinus puncticulatus*. *Animal Reproduction Science* 145, 69– 74.
- Phelps, R., Papanikos, N., Bourque, B., Bueno, F., Hastey, R., Maus, D., Ferry, A. and Davis, D. 2009. Spawning of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in response to hormonal induction or environmental control in a hatchery setting. *Reviews in Fisheries Science* 17, 149–155.
- Pinnegar, J. K., Trenkel, V. M., Tidd, A. N., Dawson, W. A. and Du Buit, M. H. 2003. Does diet in Celtic fishes reflect prey availability? *Journal of Fish Biology* (supplement A) 63, 197–212. doi:10.1046/j.1095-8649.2003.00204.x.
- Planas, M., Chamorro, A., Quintas, P. and Vilar, A. 2008. Establishment and maintenance of threatened long-snouted seahorse, *Hippocampus guttulatus*, broodstock in captivity. *Aquaculture* 283(1–4):19 - 28.
- Praiboon, J., Kaewsuralikit, C., Tankitjanukit, S., and Jitchum, P. 2012. Fatty acid composition of five species of marine phytoplankton. In *The first Asian Marine Biology Symposium*, Phuket. Program and Abstracts. (p.96). Department of Marine Science, Faculty of Fisheries, Kasetsart University.
- Pratoomyot, J., Srivilas, P., and Noiraksar, T. 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 27 (6), 1179-1187.



- Priede, I. G. 1985. Metabolic scope in fishes. In: Tytler, P. and Calow, P. (eds). *Fish Energetics: New Perspectives*. pp. 33–64. London: Croom Helm.
- Pyke, G. H. 1984. Optimal foraging theory: a critical review. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15, 523–575.
- Popova, O. A. 1978. The role of predaceous fish in ecosystems. In: Gerking, S. D. (ed.). *Ecology of Freshwater Fish Production* pp. 215–249. Oxford: Blackwell Scientific.
- Randall, J.E., Allen, G.R. and Steene, R.C. 1990. *Fishes of the Great Barrier Reef and Coral Sea*. University of Hawaii Press, Honolulu, Hawaii. 506 p.
- Rasotto, M.B., Sadovy, Y. and Mitcheson, G. 2010. Male body size predicts sperm number in the mandarin fish. *Journal of Zoology* 281: 161–167.
- Robertson, D.R., Petersen, C.W. and Brown, J.D. 1990. Lunar reproductive cycles of benthic-brooding reef fishes: reflections of larval biology or adult biology?. *Ecology Monograph* 60:311–329
- Rhyne, A.L and Tlustý, M.F. 2012. Trends in the marine aquatic trade: the influence of global economics and technology. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*. 5: 99–102.
- Ryer, C.H. and Olla, B.L. 1999. Light-induced changes in the prey consumption and Behaviour of two juvenile planktivorous fish. *Marine Ecology Progress Series* 181:41–51.
- Sadovy, Y. 2001. When being female is better. *Porcupine!* University of Hong Kong 23: 7–8.
- Sadovy, Y., Mitcheson, G. and Rasotto, M. B. 2001. Early development of the Mandarin fish *Synchiropus splendidus* (Callionymidae), with notes on its fishery and potential for aquaculture. *Aquarium Science and Conservation* 3, 253–363.
- Sadovy, Y., Randall, J.E. and Rasotto, M. B. 2005. Skin structure in six dragonet species (Gobiesociformes; Callionymidae): interspecific differences in glandular cell types and mucus secretion. *Journal of Fish Biology* 66: 1411–1418.
- Sale, P. E. 2002. *Coral reef fishes, dynamics and diversity in a complex ecosystem*. Academic press. London, UK. 549 pp.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R., & Bell, J.G. (2002). The lipids. In J.E. Halver, & R.W. Hardy (Eds). *Fish Nutrition*, 3rd. (pp. 181-257). Academic Press, San Diego, California.
- Schmitt, P. D. 1986. Prey size selectivity and feeding rate of larvae of the Northern anchovy, *Engraulis mordax* girard. *CalCOFI Rep.*, Vol. XXVII, 1986.
- Shirota, A., 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 36, 353–368.
- Sih, A. 1980. Optimal behavior: can foragers balance two conflicting demands? *Science* 210, 1041–1043.

- Sorbera, L.A., Asturiano, J.F., Carrillo, M., & Zanuy, S. (2001). Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on oocyte maturation in a marine teleost, the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biology of Reproduction*, *64*, 382-389.
- Takita, T. and Okamoto, E. 1979. Spawning behavior of the two dragonets, *Callionymus flagris* and *C. richardsoni*, in the aquarium. *Japanese Journal of Ichthyology* *26*(3), 282–288.
- Takita, T. 1983. Embryonic and larval development of the callionymid fish, *Callionymus calliste*. *Japanese Journal of Ichthyology* *29*: 441–445.
- Taranger, G.L., Carrillo, M., Schulz, R.W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., Weltzien, F.A., Dufour, S., Karlsen, O., Norberg, B., Andersson, E., Hausen, T., 2010. Control of Puberty in farmed fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* *165*, 483–515.
- Thornhill, D. J. 2012. *Ecological Impacts and Practices of the Coral Reef Wildlife Trade*. 179 pp.
- Thresher, R.E. 1984. Dragonets (Callionymidae). In: Thresher RE (ed) *Reproduction in reef fishes*. TFH Publications, Inc Ltd, Neptune City, pp 334–335.
- Tonn, W. M., Paszkowski, C. A. and Holopainen, I. J. 1992. Piscivory and recruitment: mechanisms structuring prey populations in small lakes. *Ecology* *73*, 951–958.
- Tyler, C. R. and Sumpter, J. P. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. Review in *fish biology and fisheries*. *6*, 287-318.
- Vinagre, C., Cabral, H. and Costa, M. J. 2008. Prey selection by flounder in the Douro estuary, Portugal. *Journal of Applied Ichthyology* *24*, 238–243.
- Vincent, A.C.J. and Sadovy, Y. 1998. Reproductive ecology in the conservation and management of fishes. In: Caro, T. (ed.) *Behavioural ecology and conservation biology*. Oxford University Press, New York, New York, p. 209–245.
- Wabnitz, C., Taylor, M., Green, E., Razak, T. 2003. *From Ocean to Aquarium: The Global Trade in Marine Ornamental Species*. UNEP-WCMC, Cambridge, pp. 64.
- Wallace, R. and Selman, K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am. Zool.* *21*, 325-343.
- Wheeler, A. 1975. *Fishes of the world, an illustrated dictionary*. Macmillan publishing. New York. 366 pp.
- Wittenrich, M.L., 2007. *The Complete Illustrated Breeder's Guide to Marine Aquarium Fishes*. T.F.H. publications. NJ, USA. 304 pp.
- Wong, J. M. and Benzie, J. A. H. 2003. The effects of temperature, *Artemia* enrichment, stocking density and light on the growth of juvenile seahorses, *Hippocampus whitei* (Bleeker, 1855), from Australia. *Aquaculture* *228*:107–121.
- Woods, C. M. C. and F. Valentino. 2003. Frozen mysids as an alternative to live *Artemia* In culturing seahorses *Hippocampus abdominalis*. *Aquaculture Research* *34*:757–763.

- Woods, C. M. C. 2005. Growth of cultured seahorses (*Hippocampus abdominalis*) in relation to feed ratio. *Aquaculture International* 13:305–314.
- Zhu Y, Furukawa K, Aida K, Hanyu, I. 1991. Effect of water temperature and on the Initiation and termination of the autumn spawning season in Tobinumeri-dragonet *Repomucenus beniteguri*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57:1871–1876
- Zohar Y. & Mylonas C. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture* 197, 99–136.

**ภาคผนวก ก**  
**การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

ตารางภาคผนวกที่ 1 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติการเจริญเติบโตของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้

**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
น้ำหนักเริ่มต้น	2.396	3	8	.144
ความยาวเริ่มต้น	2.410	3	8	.142
น้ำหนักสิ้นสุด	3.323	3	6	.098
ความยาวสิ้นสุด	9.439	3	6	.011
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/ตัว	2.545	3	6	.152
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/กรัม	1.826	3	6	.243
ความยาวเพิ่มขึ้น/ตัว	15.230	3	6	.003
ความยาวเพิ่มขึ้น/กรัม	3.767	3	6	.078

**ANOVA**

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
น้ำหนักเริ่มต้น	Between Groups	.365	3	.122	1.208	.367
	Within Groups	.806	8	.101		
	Total	1.171	11			
ความยาวเริ่มต้น	Between Groups	.330	3	.110	3.941	.054
	Within Groups	.223	8	.028		
	Total	.553	11			
น้ำหนักสิ้นสุด	Between Groups	.093	3	.031	.150	.926
	Within Groups	1.245	6	.207		
	Total	1.338	9			
ความยาวสิ้นสุด	Between Groups	.213	3	.071	1.416	.327
	Within Groups	.301	6	.050		
	Total	.514	9			
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/ตัว	Between Groups	.650	3	.217	.765	.554
	Within Groups	1.699	6	.283		
	Total	2.350	9			
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/กรัม	Between Groups	.046	3	.015	1.154	.401
	Within Groups	.079	6	.013		
	Total	.125	9			

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติการเจริญเติบโตของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้

ความยาวเพิ่มขึ้น/ตัว	Between Groups	.379	3	.126	1.132	.408
	Within Groups	.669	6	.111		
	Total	1.047	9			
ความยาวเพิ่มขึ้น/กรัม	Between Groups	.016	3	.005	.397	.760
	Within Groups	.080	6	.013		
	Total	.096	9			

ตารางภาคผนวกที่ 2 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติการเจริญเติบโตของปลาแมนดารินเขียวเพศเมีย

#### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
น้ำหนักเริ่มต้น	3.809	3	8	.058
ความยาวเริ่มต้น	2.580	3	8	.126
น้ำหนักสิ้นสุด	3.786	3	7	.067
ความยาวสิ้นสุด	.939	3	7	.471
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/ตัว	4.616	3	7	.044
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/กรัม	2.314	3	7	.163
ความยาวเพิ่มขึ้น/ตัว	6.223	3	7	.022
ความยาวเพิ่มขึ้น/กรัม	1.995	3	7	.203

#### ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
น้ำหนักเริ่มต้น	Between Groups	.077	3	.026	.452	.723
	Within Groups	.452	8	.056		
	Total	.529	11			
ความยาวเริ่มต้น	Between Groups	.056	3	.019	.225	.876
	Within Groups	.666	8	.083		
	Total	.722	11			
น้ำหนักสิ้นสุด	Between Groups	.217	3	.072	.213	.884
	Within Groups	2.374	7	.339		
	Total	2.591	10			

ตารางภาคผนวกที่ 2 (ต่อ) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติการเจริญเติบโตของปลาแมนดารินเขียวเพศเมีย

ความยาวสิ้นสุด	Between	.035	3	.012	.068	.975
	Groups					
	Within Groups	1.199	7	.171		
	Total	1.234	10			
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/ ตัว	Between	.448	3	.149	.510	.688
	Groups					
	Within Groups	2.050	7	.293		
	Total	2.498	10			
น้ำหนักเพิ่มขึ้น/ กรัม	Between	.038	3	.013	.894	.490
	Groups					
	Within Groups	.100	7	.014		
	Total	.138	10			
ความยาว เพิ่มขึ้น/ตัว	Between	.245	3	.082	.356	.787
	Groups					
	Within Groups	1.606	7	.229		
	Total	1.851	10			
ความยาว เพิ่มขึ้น/กรัม	Between	.028	3	.009	.328	.806
	Groups					
	Within Groups	.197	7	.028		
	Total	.225	10			

ตารางภาคผนวกที่ 3 ขนาดของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้แลเพศเมียเริ่มต้นการทดลอง

ชุดการทดลอง	น้ำหนัก		ความยาว	
	เพศผู้	เพศเมีย	เพศผู้	เพศเมีย
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	2.03	1.22	4.36	3.37
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	1.63	1.44	3.89	3.53
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล	2.63	1.95	4.01	3.86
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	1.90	1.55	3.97	3.63
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	1.56	1.87	3.73	4.14
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	1.79	1.44	3.74	3.42
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล:แรกเกิด 0.25 ตัว/มล	1.77	1.48	3.69	3.53
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล::แรกเกิด 0.25 ตัว/มล	1.73	1.53	3.66	3.63
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล::แรกเกิด 0.25 ตัว/มล	1.75	1.18	3.58	3.52
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	1.64	1.52	3.60	3.74
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	1.28	1.53	3.93	3.82
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	1.97	1.53	3.67	3.16

ตารางภาคผนวกที่ 4 ขนาดของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้แลเพศเมียสิ้นสุดการทดลอง

ชุดการทดลอง	น้ำหนัก		ความยาว	
	เพศผู้	เพศเมีย	เพศผู้	เพศเมีย
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	3.12	2.28	5.77	4.93
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	3.52	2.94	5.50	4.84
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	3.70	3.00	5.54	5.39
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	3.71	2.03	5.15	4.40
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	3.97	2.30	5.43	4.94
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	2.64	2.90	5.44	5.61
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล:แรกเกิด0.25 ตัว/มล	ตาย	2.27	ตาย	4.69
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล::แรกเกิด0.25 ตัว/มล	3.57	3.71	5.52	5.41
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล::แรกเกิด0.25 ตัว/มล	3.80	2.03	5.74	5.13
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	3.60	2.52	5.60	5.04
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	3.29	2.40	5.00	4.81
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย

ตารางภาคผนวกที่ 5 การเจริญเติบโตของปลาแมนดารินเขียวเพศผู้

ชุดการทดลอง	น.น. เพิ่มขึ้น	น.น.เพิ่มขึ้น/ กรัม	ความยาว เพิ่มขึ้น	ความยาว เพิ่มขึ้น/กรัม
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	1.09	0.35	1.41	0.45
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	1.89	0.54	1.61	0.46
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	1.07	0.29	1.53	0.41
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	1.81	0.49	1.18	0.32
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	2.41	0.61	1.70	0.43
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	0.85	0.32	1.70	0.64
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล:แรกเกิด 0.25 ตัว/มล	died	-	Died	-
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล::แรกเกิด 0.25 ตัว/มล	1.84	0.52	1.86	0.52
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล::แรกเกิด 0.25 ตัว/มล	2.05	0.54	2.16	0.57
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	1.96	0.54	1.99	0.55
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	2.01	0.61	1.07	0.33
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	died	-	died	-

ตารางภาคผนวกที่ 6 การเจริญเติบโตของปลาแมนดารินเขียวเพศเมีย

ชุดการทดลอง	น.น. เพิ่มขึ้น	น.น.เพิ่มขึ้น/ กรัม	ความยาว เพิ่มขึ้น	ความยาว เพิ่มขึ้น/กรัม
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	1.06	0.46	1.55	0.68
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล.	1.50	0.51	1.31	0.44
ชุดควบคุม อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/ล	1.05	0.35	1.53	0.51
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	1.48	0.24	0.77	0.38
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	0.43	0.19	0.79	0.35
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล.	1.46	0.50	2.19	0.75
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล:แรกเกิด 0.25ตัว/มล	0.79	0.35	1.17	0.51
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล::แรกเกิด 0.25 ตัว/มล	2.18	0.59	1.78	0.48
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 2 ตัว/ล::แรกเกิด 0.25 ตัว/มล	0.85	0.42	1.62	0.80
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	1.00	0.40	1.29	0.51
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	0.87	0.36	0.99	0.41
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 1ตัว/ล:แรกเกิด:0.5ตัว/มล	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 28 มกราคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาลินิตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนไตรท์ (มก/ล)
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.22	22.6	32	114	0.008	0.021
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.23	22.7	32	108	0.016	0.025
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.24	22.8	32	106	0.009	0.020
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.24	22.7	32	104	0.010	0.020
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.25	22.6	32	100	0.013	0.009
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.25	22.5	32	116	0.017	0.005
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.24	22.5	32	108	0.020	0.010
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.25	22.7	31	110	0.009	0.013
อาร์ทีเมียแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.25	22.7	31	108	0.008	0.002
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.25	22.7	32	110	0.006	0.005
อาร์ทีเมียแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.26	22.6	32	110	0.013	0.010
อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.26	22.5	32	104	0.010	0.010



ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.26	25.7	34	102	0.028	0.009
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.28	26.1	33	104	0.025	0.011
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.29	26.2	33	110	0.013	0.011
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.30	26.0	33	108	0.023	0.023
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.31	25.8	33	104	0.018	0.024
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.32	25.7	33	106	0.012	0.018
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.31	25.7	34	110	0.019	0.006
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.32	26.0	33	108	0.022	0.001
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.32	26.1	34	108	0.042	0.006
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.32	26.0	33	106	0.021	0.010
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.33	25.9	34	104	0.023	0.010
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.33	25.7	33	106	0.047	0.009

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 18 กุมภาพันธ์ 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.20	25.6	33	108	0.037	0.006
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.23	26.0	32	90	0.021	0.007
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.23	26.2	33	122	0.010	0.000
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.25	26.0	34	108	0.001	0.031
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.20	25.8	34	114	0.002	0.006
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.26	25.7	33	108	0.031	0.000
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.27	25.8	33	108	0.016	0.004
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.27	26.1	33	112	0.042	0.014
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.28	26.2	33	112	0.036	0.028
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.29	26.1	34	112	0.034	0.008
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.30	25.9	34	112	0.000	0.009
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.31	25.6	34	110	0.025	0.016

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผู้ทดลอง วันที่ 27 กุมภาพันธ์ 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.23	26.1	33	102	0.025	0.006
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.24	26.4	33	106	0.003	0.005
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.24	26.5	33	106	0.010	0.002
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.25	26.4	33	106	0.004	0.004
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.26	26.1	33	106	0.017	0.002
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.27	26.0	33	104	0.018	0.002
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.27	26.1	33	102	0.012	0.004
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.27	26.4	33	106	0.015	0.015
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.27	26.5	33	104	0.014	0.023
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.28	26.4	33	106	0.035	0.011
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.27	26.4	33	102	0.023	0.004
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.29	26.0	33	110	0.009	0.004

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผู้ทดลอง วันที่ 13 มีนาคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.11	26.7	33	98	0.000	0.000
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.13	27.0	32	96	0.000	0.047
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.14	27.1	32	94	0.046	0.032
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.16	27.1	33	100	0.083	0.059
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.15	26.7	33	96	0.040	0.044
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.16	26.6	32	98	0.000	0.081
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.15	26.7	33	102	0.087	0.045
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.16	27.0	33	98	0.074	0.049
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.16	27.1	33	100	0.115	0.051
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.17	26.9	33	98	0.108	0.037
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.18	26.7	33	100	0.019	0.011
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.18	26.6	33	100	0.095	0.074

ตารางภาคผนวกที่ 1.12 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 20 มีนาคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาลินิตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.11	27.0	33	148	0.000	0.053
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.15	27.0	33	136	0.000	0.041
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.20	27.0	33	146	0.000	0.040
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.14	27.0	34	104	0.000	0.062
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.23	27.0	34	104	0.000	0.049
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.26	27.0	34	92	0.000	0.059
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.27	27.0	34	98	0.000	0.053
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.29	27.0	33	96	0.000	0.072
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 0.5 ตัว/มล	8.29	27.0	33	94	0.010	0.056
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.27	27.0	34	104	0.012	0.060
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 0.5 ตัว/มล	8.34	27.0	34	102	0.008	0.063
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.27	27.0	34	104	0.002	0.074

ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 27 มีนาคม 2557

ชุดการทดลอง	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาลินิตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	26.0	33	136	0.008	0.028
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	26.0	33	140	0.024	0.044
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 0.5 ตัว/มล	26.0	33	138	0.000	0.071
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	26.0	33	154	0.000	0.086
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	26.0	33	134	0.000	0.063
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	26.0	33	142	0.014	0.043
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	26.0	33	136	0.000	0.063
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	26.0	33	138	0.013	0.102
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 0.5 ตัว/มล	26.0	33	138	0.008	0.143
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	26.0	33	150	0.014	0.065
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 0.5 ตัว/มล	26.0	33	140	0.000	0.101
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	26.0	33	146	0.010	0.118

ตารางภาคผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 3 เมษายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาลินิตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.26	26.0	35	150	0.000	0.059
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.68	26.0	35	152	0.000	0.047
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.69	26.0	35	140	0.000	0.046
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.69	26.0	35	152	0.000	0.043
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.69	26.0	35	138	0.000	0.049
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.67	26.0	35	144	0.000	0.038
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.68	26.0	35	138	0.000	0.041
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.70	26.0	35	132	0.000	0.043
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.69	26.0	35	134	0.000	0.073
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.67	26.0	35	132	0.000	0.055
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.68	26.0	35	144	0.000	0.064
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.71	26.0	35	144	0.000	0.065

ตารางภาคผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 10 เมษายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.62	27.0	34	0.000	0.034
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.68	27.0	32	0.000	0.037
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.64	27.0	32	0.000	0.044
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.68	27.0	35	0.000	0.033
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.61	27.0	34	0.000	0.067
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.60	27.0	31	0.000	0.043
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.67	27.0	31	0.000	0.016
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.67	27.0	31	0.000	0.034
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.63	27.0	32	0.000	0.085
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.64	27.0	33	0.000	0.069
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.65	27.0	33	0.000	0.034
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.68	27.0	33	0.000	0.048

ตารางภาคผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มทดลอง 18 เมษายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.62	27.0	33	0.000	0.035
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.68	27.0	26	0.000	0.032
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.64	27.0	26	0.000	0.037
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.68	27.0	28	0.000	0.018
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.60	27.0	31	0.000	0.093
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.67	27.0	29	0.000	0.029
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.67	27.0	26	0.000	0.001
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.68	27.0	26	0.000	0.025
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.63	27.0	28	0.000	0.067
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.66	27.0	28	0.000	0.031
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.66	27.0	27	0.000	0.025
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.67	27.0	27	0.000	0.044

ตารางภาคผนวกที่ 17 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มทดลอง วันที่ 24 เมษายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.64	29.0	28	118	0.000	0.036
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.68	29.0	26	134	0.000	0.039
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.64	29.0	25	114	0.000	0.030
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.70	29.0	28	144	0.000	0.022
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.61	29.0	31	126	0.000	0.063
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.68	29.0	25	124	0.000	0.012
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.67	29.0	26	118	0.000	0.021
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.68	29.0	26	134	0.000	0.046
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.65	29.0	27	126	0.000	0.050
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.67	29.0	29	138	0.000	0.048
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.67	29.0	27	120	0.000	0.028
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.70	29.0	27	136	0.000	0.056

ตารางภาคผนวกที่ 18 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 21 พฤษภาคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาลินิตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.06	26.0	33	114	0.152	0.078
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.10	26.0	33	120	0.177	0.068
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.07	26.0	33	110	0.258	0.062
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.05	26.0	33	110	0.159	0.045
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.01	26.0	33	112	0.366	0.080
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.07	26.0	33	114	0.183	0.053
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.07	26.0	33	108	0.138	0.046
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.08	26.0	33	112	0.214	0.063
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.05	26.0	33	114	0.388	0.053
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.03	26.0	33	104	0.345	0.043
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.03	26.0	33	114	0.235	0.045
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.04	26.0	33	114	0.231	0.070

ตารางภาคผนวกที่ 19 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 29 พฤษภาคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาลินิตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.03	25.0	32	116	0.000	0.066
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.06	25.0	32	116	0.000	0.080
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.05	25.0	32	114	0.000	0.100
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.05	25.0	32	114	0.000	0.104
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	7.95	25.0	32	108	0.000	0.266
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.04	25.0	32	116	0.000	0.101
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.04	25.0	32	114	0.054	0.090
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.05	25.0	32	114	0.008	0.133
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	7.99	25.0	32	112	0.000	0.218
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.00	25.0	32	104	0.000	0.183
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.00	25.0	32	114	0.000	0.202
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.01	25.0	32	110	0.000	0.121

ตารางภาคผนวกที่ 20 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผู้ทดลอง วันที่ 6 มิถุนายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.05	28.0	34	116	0.022	0.075
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.04	28.0	34	128	0.038	0.063
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.07	28.0	34	128	0.035	0.080
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.07	28.0	35	114	0.034	0.058
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.09	28.0	34	122	0.023	0.093
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.04	28.0	35	124	0.033	0.035
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.04	28.0	34	114	0.026	0.038
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.05	28.0	34	118	0.009	0.053
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.04	28.0	34	114	0.129	0.120
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.00	28.0	34	120	0.187	0.096
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.08	28.0	34	120	0.023	0.063
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.01	28.0	34	122	0.040	0.042

ตารางภาคผนวกที่ 21 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผู้ทดลอง วันที่ 19 มิถุนายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.02	27.0	32	116	0.013	0.033
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.07	27.0	31	118	0.010	0.022
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.03	27.0	32	118	0.022	0.032
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.08	27.0	33	122	0.046	0.016
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.07	27.0	33	114	0.011	0.035
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.01	27.0	33	122	0.014	0.033
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.02	27.0	32	116	0.017	0.010
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.02	27.0	32	112	0.000	0.042
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.03	27.0	31	114	0.073	0.053
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.05	27.0	33	116	0.013	0.048
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.05	27.0	33	120	0.009	0.043
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.02	27.0	33	118	0.003	0.025

ตารางภาคผนวกที่ 22 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 4 กรกฎาคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.06	28.0	33	120	0.003	0.050
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.06	28.0	33	120	0.000	0.029
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.07	28.0	33	120	0.000	0.045
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.07	28.0	35	126	0.060	0.046
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.01	28.0	34	116	0.000	0.068
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.09	28.0	34	130	0.000	0.017
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.12	28.0	34	122	0.020	0.008
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.06	28.0	33	122	0.043	0.049
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.04	28.0	33	118	0.000	0.064
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.01	28.0	34	116	0.036	0.041
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.06	28.0	35	120	0.000	0.055
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.06	28.0	35	126	0.000	0.073

ตารางภาคผนวกที่ 23 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตู้ทดลอง วันที่ 25 กรกฎาคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	คว ำ ม เค็ม (พีพีที)	อัล ค า ลี นิตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.01	24.0	32	126	0.013	0.009
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.02	24.0	33	116	0.003	0.061
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.01	24.0	33	120	0.004	0.041
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.00	24.0	34	114	0.011	0.016
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.00	24.0	34	116	0.018	0.009
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.00	24.0	34	102	0.007	0.007
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.03	24.0	30	104	0.035	0.034
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.05	24.0	30	116	0.002	0.018
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.05	24.0	30	110	0.159	0.027
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.03	24.0	30	116	0.131	0.024
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.00	24.0	30	116	0.001	0.079
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.06	24.0	30	114	0.010	0.038



ตารางภาคผนวกที่ 24 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำใต้ทดลอง วันที่ 8 สิงหาคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.06	28.0	31	124	0.359	0.035
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.07	28.0	31	118	0.152	0.018
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.07	28.0	32	112	0.044	0.025
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.07	28.0	31	112	0.029	0.033
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	7.93	28.0	31	114	0.509	0.069
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.03	28.0	32	112	0.002	0.025
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.06	28.0	32	112	0.029	0.025
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.05	28.0	32	126	0.094	0.022
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	7.99	28.0	32	110	0.070	0.051
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.00	28.0	33	116	0.000	0.057
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.01	28.0	30	122	0.015	0.036
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.04	28.0	30	108	0.047	0.073

ตารางภาคผนวกที่ 25 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำใต้ทดลอง วันที่ 22 สิงหาคม 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.04	27.0	34	115	0.095	0.048
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.06	27.0	34	116	0.066	0.044
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.06	27.0	35	116	0.038	0.041
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.06	27.0	34	120	0.051	0.047
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.02	27.0	35	118	0.043	0.085
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.07	27.0	35	122	0.012	0.044
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.06	27.0	34	120	0.038	0.035
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.06	27.0	34	120	0.095	0.037
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.03	27.0	34	108	0.016	0.071
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.03	27.0	35	120	0.082	0.092
อาร์ทีเมียดัวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.01	27.0	35	116	0.030	0.037
อาร์ทีเมียดัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.04	27.0	33	118	0.048	0.059

ตารางภาคผนวกที่ 26 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผู้ทดลอง วันที่ 12 กันยายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.04	26.0	33	106	0.015	0.153
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.05	26.0	33	104	0.012	0.134
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.04	26.0	32	106	0.000	0.217
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.06	26.0	33	106	0.010	0.039
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.01	26.0	33	108	0.000	0.082
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.05	26.0	33	110	0.000	0.052
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.05	26.0	33	108	0.000	0.029
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.03	26.0	32	112	0.000	0.012
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.00	26.0	33	106	0.006	0.019
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.03	26.0	32	108	0.011	0.044
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	8.04	26.0	33	108	0.014	0.021
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.00	26.0	32	110	0.002	0.033

ตารางภาคผนวกที่ 27 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผู้ทดลอง วันที่ 19 กันยายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.03	26.0	34	106	0.023	0.153
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.05	26.0	34	104	0.011	0.134
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.03	26.0	34	104	0.009	0.217
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.08	26.0	33	104	0.024	0.038
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.08	26.0	32	108	0.036	0.038
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.02	26.0	32	108	0.006	0.091
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.05	26.0	35	104	0.010	0.072
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.04	26.0	33	100	0.028	0.039
อาร์ทีเมียวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	7.97	26.0	32	100	0.024	0.052
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	7.91	26.0	34	98	0.034	0.087
อาร์ทีเมียวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	7.98	26.0	35	102	0.057	0.041
อาร์ทีเมียวตัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.04	26.0	34	112	0.053	0.036

ตารางภาคผนวกที่ 28 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผู้ทดลอง วันที่ 26 กันยายน 2557

ชุดการทดลอง	พีเอช	อุณหภูมิ (เซลเซียส)	ความเค็ม (พีพีที)	อัลคาไลน์ตี (มก/ล)	แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนโตรท (มก/ล)
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.03	26.0	34	106	0.023	0.153
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.05	26.0	34	104	0.011	0.134
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	8.03	26.0	34	104	0.009	0.217
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.08	26.0	33	104	0.024	0.038
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 2:0.25 ตัว/มล	8.08	26.0	32	108	0.036	0.038
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.02	26.0	32	108	0.006	0.091
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย:แรกเกิด 1:0.5 ตัว/มล	8.05	26.0	35	104	0.010	0.072
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.04	26.0	33	100	0.028	0.039
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด 0.5 ตัว/มล	7.97	26.0	32	100	0.024	0.052
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	7.91	26.0	34	98	0.034	0.087
อาร์ทีเมียวัวแรกเกิด0.5 ตัว/มล	7.98	26.0	35	102	0.057	0.041
อาร์ทีเมียวัวเต็มวัย 3 ตัว/มล	8.04	26.0	34	112	0.053	0.036