มหาวิทยาลัยฟาฏอนี ร่วมกับ เครือข่ายความร่วมมือ
มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ และมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

Proceedings

การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 6

เรื่อง

สร้างสรรค์งานวิจัยเพื่อขับเคลื่อนประเทศ
สู่ความมั่นคง มั่งคั่ง และยั่งยืนในยุค
Thailand 4.0

(วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตรนวัตกรรม)

18 ตุลาคม 2017
ณ อาคารเรียนรวมเฉลิมพระเกียรติ
มหาวิทยาลัยฟาฏอนี

การศึกษาระยะพัฒนาการของเซลล์ไข่และการขยายพันธุ์ของปลาเลียหินสายพันธุ์การ์รา (*Garra cambodgiensis*) ด้วยเทคนิคเนื้อเยื่อวิทยาเพื่อการลงทุนในธุรกิจฟิชสปา

อดุลย์สมาน สุขแก้ว[1], บุคอรี มะตูแก[2], สุรินทร บุญรอด[3] , สุไหลหมาน หมาดโหยด[4]

[1] วศ.ม. (เทคโนโลยีวิศวกรรมพลังงาน), อาจารย์สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

[2] วท.ม. (สัตวศาสตร์), อาจารย์สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

[3] คม. (วิทยาศาสตร์ศึกษา), นักวิทยาศาสตร์, คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตทุ่งใหญ่ นครศรีธรรมราช

[3] วท.ม. (สัตวศาสตร์), ผู้ช่วยศาสตราจารย์, คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตทุ่งใหญ่ นครศรีธรรมราช

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาระยะการพัฒนาการของเซลล์ไข่ปลาเลียหินสายพันธุ์การ์รา (*Garra cambodgiensis*) ด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology) ในน้ำตกวังศิลารักษ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ตั้งแต่เดือน มกราคม ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ. 2558 พบว่าจากข้อมูลทางเนื้อเยื่อวิทยาของรังไข่ปลาเลียหินแบ่งระยะโอโอไซต์ได้เป็น3โอโอไซต์ระยะ primary growth phase (ระยะที่ 1และ 2)มีสภาพไม่ค่อยชัดเจนและพบได้น้อยมาก และที่พบค่อนข้างน้อยรองลงมาคือระยะที่ 3 early-vitellogenesis (central germinal vesicle, CGV) ขนาดของนิวเคลียสมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับขนาดของเซลล์ไข่และอยู่ตรงกลางเซลล์ มีการเพิ่มจำนวนของ yolk granules ตรงขอบเซลล์และ cortical alveoli บริเวณรอบนิวเคลียส เมื่อนำผลการทดลองมาประเมินมูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์สุทธิของการเพาะเลี้ยงปลาเลียหินร่วมกับธุรกิจฟิชสปา พบว่ามีความคุ้มค่ามากต่อการนำไปใช้ประกอบกิจการโดยสามารถให้ผลกำไรในการลงทุนเพียง 1 ปี เท่านั้น โดยมีค่า NPV เท่ากับ 327,837.31 ในอนาคตต่อไปในการส่งเสริมถึงธุรกิจดังกล่าวก็เป็นสิ่งที่ดีที่สามารถสร้างรายได้จากชุมชนสู่อุตสาหกรรมได้

คำสำคัญ: *Garra cambodgiensis*, เนื้อเยื่อวิทยา, โอโอไซต์, การลงทุน

Study On The Developmental Stage of Oocytes And The Propagation of Carra Fish Species (*Garra cambodgiensis*) With Tissue Technique For Investing In The Fish Spa Business

Adulsman Sukkaew[1], Bukoree matokae[2], Surin Boonrod[3] , Sulaiman Madyode[4]

[1] M.Eng. (Energy Engineering Technology), Lecturer of Physics, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University

[2] MS.C. (Animal Science), Lecturer of Animal Science, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University

[3] M.Ed. (Science Education), Scientist of Veterinary, Faculty of Veterinary , Rajamangala university of technology srivijaya nakhon si thammarat campus

[4] MS.C. (Animal Science), Lecturer of Veterinary, Faculty of Veterinary , Rajamangala university of technology srivijaya nakhon si thammarat campus

Abstract

Objective of this research was study of development stages of egg cells in *Garra cambodgiensis* species with histology technique at Wang-silaruk waterfall , Nakhornsrithammarat province. This research were kept data in January to march 2015, it was found that, The data tissue of egg cell in *G. cambodgiensis* were three oocytes as primary growth phase were primary and secondary stages, this condition were very rare and not obvious. After that, in third stage was found a little of early-vitellogenesis (central germinal vesicle, CGV), had the size of nucleus bigger than egg cell and lived a middle cell. More than that, the yolk granules increasing was a edge cell and cortical alveoli in around a nucleus. The results of experiments to assess of net present value (NPV) in *G. cambodgiensis* of cultivation and a fishes spa investment found to be very worthwhile to apply business by making a profit on an investment of just one year (NPV = 327,837.31). In the future to the business promotion, it is good to make money from the community to industry.

Keyword: *Garra cambodgiensis*, Histology, Oocyte, Investment

บทนำ (Introduction)

ในปัจจุบันปลาเลียหินเป็นปลาที่ถูกนำมาใช้ในทางธุรกิจปลาสปาหรือฟิชสปา ซึ่งได้รับความนิยมมากในการนำมาใช้และสร้างรายได้และผลกำไรอย่างมหาศาลต่อผู้ประกอบกิจการ ส่งผลให้ปริมาณปลาชนิดนี้มีจำนวนลดน้อยลงและขาดตลาด นอกจากนี้ยังมีผลกระทบต่อระบบนิเวศของปลาและอาจจะเกิดการสูญพันธุ์ต่อไปได้ในอนาคต

ปลาเลียหิน (*Garra cambodgiensis*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีลำตัวขนาดเล็กประมาณ 4-10 เซนติเมตร ลำตัวยาว หลังโค้งเล็กน้อย ปลายทู่ สันท้องแบนราบและมีตุ่มเหมือนก้อนกรวดเล็กๆเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะตัวผู้ริมฝีปากหนาและมีตุ่มเม็ดที่อ่อนนุ่มอยู่เป็นจำนวนมาก ไม่มีร่องระหว่างริมฝีปากกับกระดูกขากรรไกร ริมฝีปากล่างแผ่ออกกว้างเป็นแผ่นใช้สำหรับดูดและยึดเกาะกับก้อนหิน ขอบหน้าเรียบ ใช้ในการยึดเกาะกับของแข็ง มีหนวด 1-2 คู่ ครีบอกและครีบท้องอยู่ในแนวระดับสันท้อง ครีบหลังมีก้านครีบแขนง 8 ก้าน และก้านครีบเดี่ยวไม่แข็ง ครีบก้นสั้นมีก้านครีบแขนง 5 ก้าน เส้นข้างลำตัวตรง (จิราพร โรจน์ทินกร และจริยา เทพณรงค์, 2549) ปลาชนิดนี้จะอาศัยอยู่บริเวณลำธารบนภูเขาที่ใสสะอาดและมีกระแสน้ำไหลเชี่ยว โดยทั่วไปจะกินตะไคร่น้ำเป็นอาหาร (สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี, 2543) ซึ่งอยู่ในกลุ่มของปลามัน *Garra pavifilum* (Fowler) และปลามูดหน้านอ *Garra furiginosa* (Fowler) โดยมีความต่างกันตรงส่วนของคอดหาง(caudal peduncle) ซึ่งมีความยาวมากกว่าหรือใกล้เคียงกับส่วนหัว(ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ, 2530) โดยทั่วไปของปลาเลียหินจะพบอย่างแพร่หลายในเขตทวีปเอเชียโดยมีบางรายงานวิจัยที่ทำการศึกษาในเรื่องดังกล่าวก็พบสายพันธุ์ของปลาชนิดนี้มากกว่า 100 สายพันธุ์ สำหรับประเทศไทยเองจะพบปลาในสกุลนี้ส่วนใหญ่ 3 สกุล เท่านั้น ประกอบด้วย *Garra fuliginosa*, *Garra notate* และ *Garra cambodgiensis* (ประสาน พรโสภิณ และอุมาภรณ์ จรดล, 2549). ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีเป้าหมายต้องการศึกษาถึงพัฒนาการของไข่ปลาด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยาเพื่อใช้เป็นข้อมูลในเบื้องต้นต่อการขยายสายพันธุ์ปลาได้ให้สามารถนำมาใช้ในธุรกิจปลาสปาหรือไว้ใช้ในการค้าขายประเภทปลาสวยงามโดยไม่ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์การวิจัย (Objective)

1. เพื่อระยะพัฒนาการของเซลล์ไข่และการขยายพันธุ์ของปลาเลียหินสายพันธุ์การ์รา (*Garra cambodgiensis*) ด้วยเทคนิคเนื้อเยื่อวิทยา
2. เพื่อศึกษาเศรษฐศาสตร์การลงทุนปลาเลียหินในธุรกิจฟิชสปา

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature Reviews)

ปลาเลียหิน หรือเรียกว่า ปลาเลียหินกัมพูชา หรือ ปลามูดกัมพูชา หรือ ปลาเลียหินแม่น้ำโขง (อังกฤษ: Cambodian logsucker, Stone-lapping fish, Stonelapping minnow) เป็นปลาน้ำจืดขนาดเล็กชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garra cambodgiensis* เป็นปลาเลียหินชนิดหนึ่ง อยู่ใน วงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) ลักษณะลำตัวค่อนข้างกลม เรียวยาว มีสีเงินยวงด้านราวท้องตลอดหาง ส่วนบนของลำตัวสีน้ำตาลอมเขียว มีแถบสีดำขนาดใหญ่คาดกลาง ลำตัวจากปากจดหาง มีหนวด 1 คู่ อยู่ปลายจะงอยปาก ปากด้านล่างใช้ในการยึดเกาะก้อนหิน ปลายจะงอยปากจะมีก้อนเนื้อยื่นออกมาเป็นตุ่ม ครีบหางสีเหลืองอ่อนเหมือนกับครีบหลัง (ดังภาพที่ 1) ชอบอยู่ตามโขดหิน พื้นหินพื้นทรายในบริเวณ ต้นน้ำตก ตามลำธารที่มีกระแสน้ำไหลเชียว ชอบอยู่ในน้ำเย็นที่มีน้ำไหลอยู่ตลอดเวลา กินตะไคร่น้ำ ตาม

ก้อนหิน พบโดยทั่วไปตามลำธารต้นน้ำของน้ำตกในนครศรีธรรมราช โดยเฉพาะน้ำตกกรุงชิง น้ำตกพรหมโลก น้ำตกอ้ายเขียว และน้ำตกกะโรม และแหล่งน้ำตกอื่นๆโดยทั่วไป (สันทนา ดวงสวัสดิ์ และทัศพล กระจ่างดารา, 2537)

ระบบของการเลี้ยงสัตว์น้ำ

ระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันโดยส่วนใหญ่แล้วจะแบ่งตามลักษณะของการจัดการการเลี้ยงและการลงทุนและผลผลิตตอบแทนต่อหน่วยได้เป็น 4 ระบบ

1. การเลี้ยงแบบธรรมชาติ (Extensive) ซึ่งระบบของการเลี้ยงประเภทนี้ เดิมทีเดียวนิยมในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบนำพันธุ์กุ้งจากธรรมชาติ มาเลี้ยงเวลาน้ำขึ้น แล้วกักขังในบ่อขนาดใหญ่ 10-50 ไร่ แล้วรอเวลาจับหรือการเลี้ยงปลาในนาข้าวโดยไม่ให้อาหารหรือใส่ปุ๋ย ผลผลิตที่ได้ต่อหน่วยจะไม่มาก
2. การเลี้ยงแบบกึ่งพัฒนา (Semi-Intensive) ปัจจุบันมีระบบการเลี้ยงแบบนี้ค่อนข้างมาก โดยเฉพาะในการเลี้ยงสัตว์น้ำจืด เช่น ปลานิล ไน ตะเพียน ยี่สกเทศ สวาย กล่าวคือ มีการปล่อยพันธุ์สัตว์น้ำที่เพาะได้ เสริมลงไปเลี้ยงในบ่อจากธรรมชาติ มีการเตรียมบ่อ การให้อาหารจะไม่แน่นอน
3. การเลี้ยงแบบพัฒนา (Intensive) เริ่มได้รับการพัฒนาและนิยมมากและมีบทบาทสำคัญการเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง การเลี้ยงในกระชัง เช่น การเลี้ยงกุ้งทะเล การเลี้ยงปลาเก๋า ปลากะพง หอยนางรม ปลาดุก กุ้งก้ามกราม ปลาบู่ ปลาชะโด ปลาTrout ในบ่อดิน การเลี้ยงปลาดุกในบ่อซีเมนต์กลมกับสัตว์น้ำที่ค่อนข้างมีมูลค่าสูง มีการให้อาหารที่แน่นอนเป็นเวลา ให้อากาศในบ่อ สัตว์น้ำได้จากการเพาะเลี้ยงและปล่อยโดยตรงการลงทุนสูง มีผลผลิตและผลตอบแทนค่อนข้างสูงต่อหน่วย และแน่นอนกว่า 2 ระบบแรก
4. การเลี้ยงแบบพัฒนามาก (Super Intensive) การเลี้ยงในแถบประเทศเอเชียยังพบไม่มาก ส่วนใหญ่แล้วเป็นการเลี้ยงที่ใช้หลักวิชาการสูง เช่นการเลี้ยงปลา Salmon หรือปลาทูน่า ในกระชัง หรือคอกในอ่างหรือทะเล การเลี้ยงแบบเพศเดียว การเลี้ยงปลาจากการถ่ายยีน เช่น ในปลา Salmon มีการจัดการที่ดีการลงทุนสูง (สุรินทร บุญรอด, 2558)

วิธีดำเนินการวิจัย (Research Methodology)

แหล่งที่อยู่ของปลาเลียหินและการวิธีการจับ

สำรวจข้อมูลในเบื้องต้นโดยการสุ่มจากแหล่งน้ำตกวังศิลารักษ์อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช เป็นแหล่งที่ใช้ในกรณีศึกษา ซึ่งคาดว่าน่าจะมีปลาชนิดนี้อยู่ จากนั้นเดินสำรวจปลาโดยสังเกตจากก้อนหินที่มีตะไคร่น้ำและเป็นพื้นที่ที่มีน้ำไหลตลอด แล้วนำแหที่ได้เตรียมไว้ ขนาดกว้างXยาวเท่ากับ 1X1 เมตร ที่มีรูขนาด 2 มิลลิเมตร แล้วนำมาใส่ลงในถังที่มีออกซิเจน จากนั้นทำการขนส่งมาที่สถานเพาะเลี้ยงปลา ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ทุ่งใหญ่จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยใช้ระยะเวลาในการศึกษาภายใน 3 เดือน ตั้งแต่ช่วงเดือนมกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ. 2558 (Smith, 1945)

การเตรียมชุดเพาะฟักเพาะเลี้ยงและการคัดเลือกปลาเลียหิน

เตรียมชุดเพาะฟักแบบกรวยฟัก เป็นแบบประยุกต์ ซึ่งระบบน้ำใช้น้ำหมุนเวียนมีระบบกรองน้ำ จากนั้นคัดเลือกปลาโดยคัดลักษณะปลาที่สมบูรณ์ประเมินจากลักษณะสี และขนาดของปลาโดยคัดเลือกปลาให้มีขนาดช่วงระหว่าง 5-15 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) (Humason, 1979)

การเตรียมอาหารสำหรับในการเพาะเลี้ยงปลาเลียหิน

เตรียมอาหารกลุ่มตะไคร่ซึ่งเก็บจากน้ำตกมาเป็นอาหารแล้วเติมออกซิเจนเพื่อปรับสภาพแวดล้อมของปลาให้เสมือนกับธรรมชาติของปลาที่อาศัยอยู่แล้วลังเกตปลาที่คาดว่ามีไข่ปลาภายแล้วทำการบริบาลปลาประมาณ 3-7 วัน ก่อนที่จะนำปลาดังกล่าวมาศึกษาเซลล์ไข่ภายในต่อไป

ภาพที่ 1 ลักษณะปลาเลียหินสายพันธุ์การ์รา *Garra cambodgiensis*
ที่มา : สุรินทร บุญรอด, 2558, ถ่ายภาพ

ศึกษาระยะการพัฒนาการของเซลล์ไข่ปลาเลียหินในระยะต่างๆโดยวิธีการเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology)

ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาตามวิธีของ Humason (1979) นำตัวอย่างเนื้อเยื่อที่เตรียมไว้มาทำการขจัดน้ำ (dehydration) นำไปตรึงในพาราฟิน (paraffin wax) แล้วทำการตัดเนื้อเยื่อที่ความบาง 5 ไมโครเมตร สังเกตโครงสร้างและการพัฒนาการของเซลล์ไข่ปลาเลียหินในระยะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้วบันทึกรูปภาพเพื่อศึกษาระยะการพัฒนาการของเซลล์ไข่ปลาเลียหิน (Bas, 2013)

การประเมินมูลค่าปัจจุบันของประโยชน์สุทธิต่อการลงทุนในการเพาะเลี้ยงเซลล์ไข่ของปลาเลียหินสู่ธุรกิจฟิชสปา

เตรียมข้อมูลทางเศรษฐศาสตร์เพื่อศึกษามูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์สุทธิ (Net Present Value ,NPV) โดยศึกษาจากข้อมูลของโครงการวิจัยตลอดช่วงระยะเวลาที่ได้คาดว่าจะให้ผลประโยชน์ต่อกลุ่มเป้าหมายในเชิงธุรกิจซึ่งมีเกณฑ์การตัดสินใจและยอมรับในค่า NPVคือ ต้องมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับศูนย์ (D'Amore, et al., 2015) คำนวณจากสมการที่ 1

$$NPV=\frac{\sum_{t=1}^{n}(B_t-C_t)}{(1+r)^t} \quad (1)$$

โดยที่ B_t = มูลค่าของผลประโยชน์จากงานวิจัยที่เกิดขึ้นในปีที่ t (t = 0, 1, 2..., n)

C_t = มูลค่าของต้นทุนงานวิจัยที่เกิดขึ้นในปีที่ t (t = 0, 1, 2..., n)

r = อัตราดอกเบี้ยหรืออัตราคิดลด

n = ระยะเวลาทั้งหมดในกาดำเนินงานวิจัยรวมถึงระยะเวลาที่โครงการคาดว่าจะให้ผลประโยชน์ต่อกลุ่มเป้าหมาย

ผลการวิจัย (Results)

ผลของเนื้อเยื่อเซลล์ไข่ปลาเลียหินที่เจริญเต็มวัย

จากข้อมูลที่ได้ศึกษาในครั้งนี้ พบว่าส่วนใหญ่ปลาเลียหินเพศเมียจะมีน้ำหนักในช่วง 10-20 กรัม และมีความยาวช่วง 7-15 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลของน้ำหนักความยาวและน้ำหนักของรังไข่ ของปลาเลียหินสายพันธุ์การ์รา (*G. cambodgiensis*) เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ลำดับที่	เดือน	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	น้ำหนักของรังไข่ (กรัม)
1	มกราคม	12.68 ± 4.28	10.92 ± 0.94	2.33
2	กุมภาพันธ์	11.37 ± 3.18	11.08 ± 1.33	4.36
3	มีนาคม	15.77 ± 7.41	11.09 ± 1.99	5.64
	รวม	**13.27**	**11.03**	**4.11**

เมื่อผ่าท้องปลาแล้วนำไข่ไปเตรียมตามเทคนิคเนื้อเยื่อวิทยาโดยเก็บตัวอย่างปลาที่ได้จาก การเพาะเลี้ยงตั้งแต่ เดือนมกราคม ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2558 แล้วทำการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างปลา โดยข้อมูลทางเนื้อเยื่อวิทยาของรังไข่ปลาเลียหินพบการพัฒนาระยะโอโอไซต์ (Oocytes) ทั้ง 3 ระยะ ภายในรังไข่ส่วนต้น รังไข่ส่วนกลาง และ รังไข่ส่วนปลาย เมื่อสังเกตในเดือนมกราคม พ.ศ.2558 พบว่าโอโอไซต์ระยะ primary growth phase (ระยะที่ 1และ 2) มีสภาพไม่ค่อยชัดเจนและพบได้น้อยมาก และที่พบค่อนข้างน้อยรองลงมาคือระยะที่ 3 early-vitellogenesis (central germinal vesicle, CGV) ขนาดของนิวเคลียสมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับขนาดของเซลล์ไข่และอยู่ตรงกลางเซลล์ มีการเพิ่มจำนวนของ yolk granules ตรงขอบเซลล์และ cortical alveoli บริเวณรอบนิวเคลียส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของจิราพร และคณะ (2549) ได้ศึกษาเทคนิคการศึกษาทางเนื้อเยื่อและเซลล์ของโอโอไซต์ในปลากลุ่ม Catfish พบว่าการพัฒนาการของโอโอไซต์ในปลากลุ่มนี้ จากข้อมูลทางเนื้อเยื่อวิทยาของรังไข่ปลาแบ่งระยะโอโอไซต์ได้เป็น 6 ระยะ ในการศึกษานี้ พบว่าโอโอไซต์ระยะ primary growth phase (ระยะที่ 1และ 2) มีสภาพไม่ค่อยชัดเจนและพบได้น้อยมาก และที่พบค่อนข้างน้อยรองลงมาคือระยะที่ 3 early-vitellogenesis (central germinal vesicle, CGV) ขนาดของนิวเคลียสมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับขนาดของเซลล์ไข่และอยู่ตรงกลางเซลล์ มีการเพิ่มจำนวนของ yolk granules ตรงขอบเซลล์และ cortical alveoli บริเวณรอบนิวเคลียส ระยะที่ 4 vitellogenic stage (migrating germinal vesicle, MGV) จะมีลักษณะของไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ที่เต็มไปด้วยโยค (yolk) และหยดไขมันที่ขอบเซลล์ครอบคลุมทั้งโอโอไซต์ นิวเคลียสเริ่มมีการเคลื่อนตัวไปที่ขั้ว animal pole เนื่องจากมองเห็นไม่ชัดเจน ระยะที่ 5 peripheral germinal vesicle (PGV) ไม่ปรากฏส่วนของไซโตพลาสซึม ส่วนโยคเต็มเซลล์ ขอบ

เซลล์เริ่มบาง และนิวเคลียสซึ่งอยู่ที่ขอบเซลล์มองเห็นไม่ชัดเจน แต่เห็นการแบ่งชั้นของ zona radiata และ เนื้อเยื่อชั้น follicle ระยะที่ 6 maturation (germinal vesicle breakdown, GVBD) นิวเคลียสชิดขอบเซลล์ และ yolk granule เต็มเซลล์ ขอบเซลล์ของโอโอไซต์บางและแยกชั้นจาก follicle อย่างชัดเจน และสอดคล้องกับการศึกษาของชลอ และคณะ (2530) โดยได้แบ่งระยะโอโอไซต์ ของรังไข่ปลาดุกด้านจากการทำเนื้อเยื่อวิทยา ออกเป็น 6 ระยะดังนี้ คือ

ระยะที่ 1 (oocyte stage 1) โอโอไซต์ระยะนี้ยังอยู่ในรูปของ oogonia ที่อยู่กันเป็นกลุ่มมีขนาดเล็กมากล้อมรอบโดยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ไซโตพลาสซึมติดสีชมพู มีนิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ (ภาพที่ 2 ระยะ PG ส่วนต้น ส่วนกลางและส่วนปลายของรังไข่)

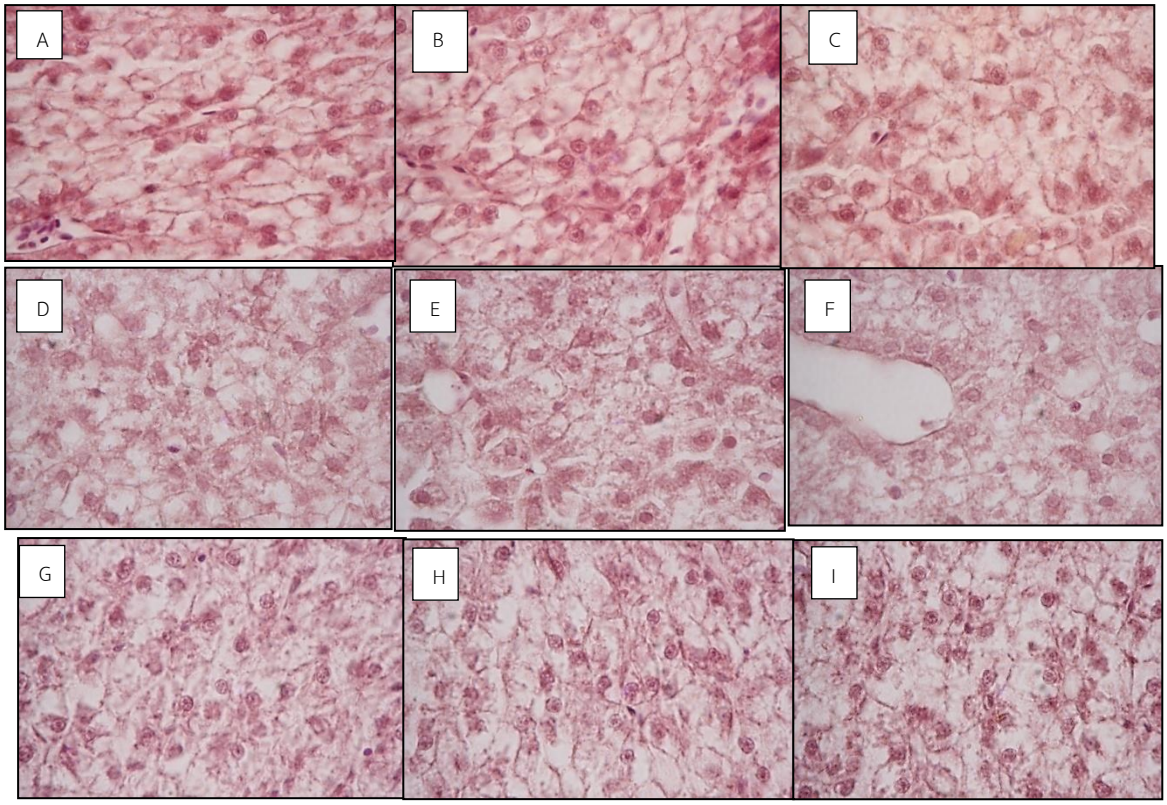
ระยะที่ 2 (oocyte stage 2) โอโอไซต์ระยะนี้จะมีขนาดใหญ่ขึ้น ไซโตพลาสซึมจะติดสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสจะมีขนาดใหญ่มากอยู่ตรงกลางเซลล์ โครมาตินจะติดสีจางกว่าไซโตพลาสซึม โอโอไซต์ระยะนี้เป็นระยะ prophase ของ meiosis (Harder, 1975) ในขณะที่ primary oocytes เจริญเติบโตจะมี follicular epithelium บางๆ ชั้นเดียวมาห้อมล้อม ซึ่งอาจจะสังเกตเห็นได้ยาก โอโอไซต์ระยะนี้จะเริ่มเคลื่อนตัวออกมาจากผนัง lamellae ที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ยึดโอโอไซต์(ภาพที่ 2 ระยะ CGV ส่วนต้น ส่วนกลางและส่วนปลายของรังไข่)

ระยะที่ 3 (oocyte stage 3) โอโอไซต์จะมีขนาดใหญ่ขึ้นมีการพัฒนาของ follicular cells มากขึ้น นิวเคลียสอาจจะอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ ไซโตพลาสซึมจะติดสีน้ำเงินเข้มมากกว่าในระยะที่ 2 นิวเคลียสจะติดสีชมพู และมี provitelline nucleoli ไปยังรอบๆ nuclear membrane ทำให้เกิดเป็น euvitelline nucleoli ซึ่งเข้าใจกันว่าเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ ribonucleoli acid (ภาพที่ 2 ระยะ MGV ส่วนกลางและส่วนปลายของรังไข่)

ระยะที่ 4 (oocyte stage 4) โอโอไซต์ระยะนี้มีขนาดใหญ่ขึ้นจะพบ euvitelline nucleoli อยู่ที่ขอบของ nuclear membrane นิวเคลียสติดสีชมพู ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินจางลงเมื่อเทียบกับระยะที่ 2 และระยะที่ 3 ระยะนี้จะเริ่มมีการเกิด yolk-vesicle และการให้กำเนิดไข่แดง (vitellogenesis) (Wallace and Selman, 1981) จะมีการเพิ่ม yolk granules และ fat vacuoles (yolk vacuoles) ในไซโตพลาสซึม และเริ่มสามารถแยกชั้น zona radiata ออกจาก follicular epithelium ได้(ภาพที่ 2 ระยะ MGV ส่วนกลางและส่วนปลายของรังไข่)

ระยะที่ 5 (oocyte stage 5) ระยะนี้จะมี yolk granules และ yolk vacuoles เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากในไซโตพลาสซึมยกเว้นบริเวณไซโตพลาสซึมที่ติดสีน้ำเงินเทาซึ่งติดกับนิวเคลียส (karyoplasm) เริ่มเสื่อมลง พบชั้น zona radiate ชัดเจน และ follicular epithelium จะเปลี่ยนเป็นเป็นเซลล์รูป cuboidal หรือ columnar (ภาพที่ 2 ระยะ PGV ส่วนปลายของรังไข่)

ระยะที่ 6 (oocyte stage 6) ในไซโตพลาสซึมของโอโอไซต์จะเต็มไปด้วย yolk vacuoles ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และ yolk granules ที่ติดสีแดง นิวเคลียสมีขนาดเล็กลงติดสีชมพู ผนังที่ล้อมรอบโอโอไซต์ระยะนี้จะหนาไม่เท่ากันตลอดโอโอไซต์ระยะนี้ยงคงเห็น zona radiate follicular cells และ theca ชัดเจน (ภาพที่ 2 ระยะ GVBD ส่วนกลางและส่วนปลายของรังไข่)



รังไข่ส่วนต้น รังไข่ส่วนกลาง รังไข่ส่วนปลาย

ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อขนาด 5 ไมโครเมตรของรังไข่ปลาเลียหินสายพันธุ์การ์รา (*G.cambodgiensis*) ในบริเวณของรังไข่ส่วนต้น(A,D และ G) รังไข่ส่วนกลาง(B,Eและ H) และรังไข่ส่วนปลายของรังไข่(C,Fและ I) ที่เพาะเลี้ยงในเดือนมกราคม ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ. 2558

ผลการประเมินมูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์สุทธิ NPV)

ในการประเมินมูลค่าของการลงทุนและความคุ้มค่าในการขยายพันธุ์และเพาะพันธุ์และทำธุรกิจฟิชสปาโดย การประเมินจากข้อมูลที่ได้จากการสอบถามในผู้ประกอบการในการจัดทำในธุรกิจดังกล่าวซึ่งในข้อมูลที่ได้เมื่อนำมาข้อมูลมาเสมือนจริงของการจัดการลงทุนพบว่าในการเพาะเลี้ยงปลาเลียหินเมื่อเทียบต่อปีจะต้องใช้ต้นทุนเริ่มต้นเพียง 9,500 บาท โดยแบ่งรายละเอียดตามตารางที่ 1 ซึ่งในปลาสายพันธุ์ดังกล่าวมีการเพาะเลี้ยงง่ายและในค่าใช้จ่ายในเรื่องอาหารมีการลงทุนน้อยมากโดยในสิ่งหลักๆของการเพาะเลี้ยงสามารถจัดทำโดยล้อเลียนธรรมชาติเพื่อสามารถกระตุ้นให้ปลามีการผสมพันธ์เอง และอาจจะมีการเพิ่มจุดโดยวิถีการเร่งโดยใช้ฮอร์โมนช่วยเร่งในการเจริญเติบโตของไข่และการบริบาลลูกปลาให้มีการเจริญต่อไปซึ่งปลาชนิดนี้มีการเจริญเติบโตได้เร็ว แต่ในขณะเดียวกันเมื่อนำปลาบางส่วนแล้วนำมาเปิดกิจการของธุรกิจฟิชสปาจะต้องใช้งบประมาณในการลงทุนที่สูงกว่าเท่ากับ 42,000 บาท ดังแสดงในตารางที่ 2 การที่การจัดทำเป็นธุรกิจในการจัดทำที่สูงขึ้นโดยประเมินวัดจากค่าเช่าของบ้านเรือนแต่ถ้าหากแหล่งที่ตั้งในการเป็นของตนเองก็สามารถประหยัดในเรื่องของต้นทุนในการลงทุนเพื่อการจัดทำธุรกิจซึ่งในกระบวนการลงทุนก็เป็นกระบวนการเริ่มต้นในการลงทุนเพื่อสามารถสร้างจุดยั่งยืนในการประกอบการเมื่อทำการประเมินถึงมูลค่าและค่าใช้จ่ายในการบริหารเรื่องพลังงานไฟฟ้าและการจัดการนำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและทำธุรกิจดังกล่าวก็พบว่าค่าไฟฟ้ามีต้นทุนที่ต้องใช้จ่ายโดยคิดเฉพาะในส่วนของการปั๊ม

ออกซิเจนเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงปลาเท่านั้นโดยมีค่าเท่ากับ 774.73 บาทต่อปีเท่านั้น และใช้น้ำ เท่ากับ 102 บาทต่อปีเท่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งจากตารางที่ 1-3 พบว่างบประมาณในการลงทุนมีการลงทุนไม่สูงมากซึ่งจุดนี้มีอัตราความเสี่ยงในการลงทุนน้อย แต่เมื่อคำนวณสิ่งที่ที่จะได้รับเมื่อเทียบต่อปี พบว่าในการเพาะเลี้ยงและขยายพันธ์ปลาเมื่อการค้าขายและการจัดทำธุรกิจพบว่าสามารถสร้างรายได้ถึง 350,000 บาท และเมื่อนำมาสร้างเป็นธุรกิจฟิชสปาสามารถสร้างรายได้เท่ากับ 500,000 บาท ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งจุดนี้ก็เป็นการดีที่สามารถสร้างความคุ้มค่าและคืนทุนได้เมื่อการลงทุนไม่ถึง 1 ปี เท่านั้น

ตารางที่ 2 ต้นทุนในการเพาะสายพันธุ์และขยายสายพันธุ์ปลาเลียหิน เทียบต่อปี

รายการ	**หน่วย**	**ต้นทุน (บาท)**
อาหารผสมเพื่อการเพาะเลี้ยง	100 กิโลกรัม	1,500
เครื่องชั่งน้ำหนัก	1 เครื่อง	1,000
ถังสำหรับบริบาลปลา	5 ถัง	2,000
เครื่องให้ก๊าซออกซิเจน	5 ถัง	3,000
อื่นๆ	-	2,000
	รวม	**9,500**

ตารางที่ 3 ต้นทุนในการลงทุนในธุรกิจฟิชสปาเทียบต่อปี

รายการ	**หน่วย**	**ต้นทุน (บาท)**
ปลาเลียหิน*	5 กิโลกรัม	-
ค่าเช่าห้องฟิชสปา	1 ห้อง	30,000
ผ้าขนหนู	100 ผืน	2,000
ตู้กระจก	5 ตู้	5,000
เครื่องให้ก๊าซออกซิเจน	5 ถัง	3,000
อื่นๆ	-	2,000
	รวม	**42,000**

หมายเหตุ ใช้ปลาเลียหินเพาะสายพันธุ์และขยายสายพันธุ์ด้วยตนเอง

ตารางที่ 4 ค่าพลังงานไฟฟ้าและค่าน้ำจากธุรกิจฟิชสปาเทียบต่อปี

รายการ	หน่วยเวลา	หน่วย	ต้นทุน(บาท)
ค่าไฟฟ้าจากการใช้ออกซิเจน (5 เครื่อง) (150วัตต์)	ให้ออกซิเจน 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 365 วัน	หน่วยไฟฟ้า 0.5896 บาทต่อหน่วย (การไฟฟ้านครหลวง)	774.73
ค่าน้ำ	ใช้ 500 ลิตรต่อ 2 สัปดาห์ ใน วัน เท่ากับ 12 ลูกบาศก์เมตร	1 หน่วยน้ำเท่ากับ 8.50 (การประปานครหลวง)	102
		รวม	**876.73**

ตารางที่ 5 รายได้ต่อปีจากส่วนผลผลิตที่ได้จากการขยายพันธุ์ปลายเลียหินและธุรกิจฟิชสปาเทียบต่อปี

ผลผลิตที่ได้	หน่วย	ราคา (บาท)
ปลาเลียหิน	500 กิโลกรัม (กิโลกรัมละ 700 บาท)	350,000
ลูกค้า	5,000คน (ชั่วโมงละ 100 บาท)	500,000
	รวม	**850,000**

เมื่อทำการประเมินมูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์สุทธิ (NPV) พบว่าภายในปีแรกเท่านั้นสามารถสร้างกำไรต่อผู้ประกอบการได้ โดยพบว่ากำไรที่ได้ในปีแรกของการเพาะเลี้ยงปลาเลียหินและธุรกิจฟิชสปารวมเท่ากับ797,623.27 บาท แบ่งเป็น ธุรกิจ การเพาะเลี้ยงปลาเลียหิน 340,500 บาท และธุรกิจฟิชสปา 457,123.27 บาท เมื่อคำนวณดูกำไรตลอดระยะเวลา 5 ปี พบว่ามูลค่าของกำไรที่ได้ดำเนินไปพร้อมกันมีกำไรสูงถึง 4,155,623.27 บาทดังแสดงในตารางที่ 5 นอกจากนี้ในส่วนของ NPV ทั้งสองธุรกิจที่ได้ทำการลงทุนพบว่า ธุรกิจการเพาะเลี้ยงปลาเลียหินและธุรกิจการจัดทำฟิชสปารวมค่าNPV เท่ากับ 327,837.31 ซึ่งจุดนี้ในธุรกิจดังกล่าวเป็นธุรกิจที่มีความเสี่ยงที่ต่ำและเป็นธุรกิจที่น่าลงทุนเป็นอย่างมาก

ตารางที่ 6 การประเมินความคุ้มค่าในการลงทุนในการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ปลาเลียหิน และการดำเนินธุรกิจปลาสปา

ปลาเลียหิน	Year 1	Year 2	Year 3	Year 4	Year 5	Total
Benefits	350,000	360,000	370,000	380,000	390,000	1,850,000
Costs	9,500	3,500	3,500	3,500	3,500	23,500
Cash Flow	340,500	356,500	366,500	376,500	386,500	1,826,500
ธุรกิจฟิชสปา	**Year 1**	**Year 2**	**Year 3**	**Year 4**	**Year 5**	**Total**
Benefits	500,000	500,000	500,000	500,000	500,000	2,500,000
Costs	42,876.73	32,000	32,000	32,000	32,000	170,876.73
Cash Flow	457,123.27	468,000	468,000	468,000	468,000	2,329,123.27
ปลาเลียหิน+ธุรกิจสปา	**Year 1**	**Year 2**	**Year 3**	**Year 4**	**Year 5**	**Total**
Benefits	850,000	860,000	870,000	880,000	890,000	4,350,000
Costs	52,376.73	35,500	35,500	35,500	35,500	194,376.73
Cash Flow	797,623.27	824,500	834,500	844,500	854,500	4,155,623.27

ตารางที่ 7 ผลการประเมินมูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์สุทธิ (NPV)

ปี	ปลาเลียหิน	ธุรกิจปลาสปา	ปลาเลียหิน+ธุรกิจปลาสปา
1	-309,545.45	-415,566.61	-725,112.06
2	-294,628.10	-386,776.86	-681,404.96
3	275,356.87	351,615.33	626,972.20
4	257,154.57	319,650.30	576,804.86
5	239,986.09	290,591.18	530,577.27
N			
PV	**168,323.98**	**159,513.33**	**327,837.31**

สรุปผลการวิจัย(Conclusion)

การศึกษาระยะการพัฒนาการของเซลล์ไข่ปลาเลียหินสายพันธุ์การ์รา *G. cambodgiensis* โดยวิธีการเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา (histology) ในน้ำตกวังศิลารักษ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ระยะเวลา 3 เดือน คือ มกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคมพ.ศ. 2557 พบว่าจากข้อมูลทางเนื้อเยื่อวิทยาของรังไข่ปลาเลียหินแบ่งระยะโอโอไซต์ได้เป็น3โอโอไซต์ระยะ primary growth phase (ระยะที่ 1และ 2) มีสภาพไม่

ค่อยชัดเจนและพบได้น้อยมาก และที่พบค่อนข้างน้อยรองลงมาคือระยะที่ 3 Early-vitellogenesis (central germinal vesicle, CGV) ขนาดของนิวเคลียสมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับขนาดของเซลล์ไข่และอยู่ตรงกลางเซลล์ มีการเพิ่มจำนวนของ yolk granules ตรงขอบเซลล์และ cortical alveoli บริเวณรอบนิวเคลียส

เมื่อประเมินมูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์สุทธิพบค่า NPV ของการเพาะเลี้ยงปลาเลียหิน+ธุรกิจฟิชสปา เท่ากับ 327,837.31 ซึ่งมีความคุ้มค่ามากต่อการนำไปใช้ประกอบกิจการโดยสามารถให้ผลกำไรในการลงทุนเพียง 1 ปี เท่านั้น และสามารถสร้างความยั่งยืนในกิจการของการลงทุนโดยใช้เวลาไม่เกิน 3 ปี

ข้อเสนอแนะ (Recommendation)

1. อาจมีการศึกษาและการปรับปรุงพันธ์ของปลาเลียหินให้มีความคงทนต่อสภาพน้ำให้มากขึ้น
2. ศึกษารูปแบบการทำธุรกิจของฟิชสปาอย่างเป็นรูปธรรม

เอกสารอ้างอิง (References)

จิราพร โรจน์ทินกร และจริยา เทพณรงค์. (2549). **เทคนิคการศึกษาทางเนื้อเยื่อและเซลล์ของโอโอไซต์ในปลากลุ่ม Catfish.** เชียงใหม่ : คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ, ปวีณา กิจสวัสดิ์ และสุปราณี ชินบุตร. (2530). **เนื้อเยื่อของปลาดุกด้าน.** กรุงเทพมหานคร : คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 138 หน้า.

ประสาน พรโสภิณ และอุมาภรณ์ จรดล. (2549). **การเพาะและอนุบาลปลาเลียหิน.**เอกสารวิชาการฉบับที่ 21/2549. เชียงใหม่: สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์ และกาญจนรี พงษ์ฉวี. (2543). **อนุกรมวิธานของปลาสวยงามเพื่อการส่งออกของไทย**. กรุงเทพมหานคร: กรมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สันทนา ดวงสวัสดิ์ และทัศพล กระจ่างดารา. (2537). **ความหลากหลายของชนิดและชีววิทยาบางประการของปลาในอ่างเก็บน้ำเขื่อนรัชชประภาจังหวัดสุราษฎร์ธานี.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 162. กรุงเทพมหานคร: สถาบันวิจัย การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด.

สุรินทร บุญรอด. (2558). **ลักษณะปลาเลียหินสายพันธุ์การ์รา *Garra cambodgiensis***. นครศรีธรรมราช : คณะสัตวแพทยศาสตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

Degani and Boker. (1992). G. Degani and R. Boker, **Sensitivity to maturation inducing steroids and gonadotropin in the oocytes of blue gourami, *Trichogastertrichopterus* (Anabantidae, Pallas, 1770).** Gen. Comp. Endocrinol. 85: 430-439.

Humason, G. L. (1979).**Animal Tissue Techniques**. W.H. Freeman and Company, San Francisco. 611 pp.

Smith, H.M. (1945). **The Fresh water Fishes of Siam, or Thailand**. United States Government Printing Office, Washington. pp. 259-262.

D'Amore, D. M., Rios-Cardenas, O., & Morris, M. R. (2015). Maternal investment influences development of behavioural syndrome in swordtail fish, *Xiphophorus multilineatus*. **Animal Behaviour**, 103(0): 147-151.

Bas, E. (2013). A robust approach to the decision rules of NPV and IRR for simple projects. **Applied Mathematics and Computation**, 219(11): 5901-5908.