

รายงานการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2542

เรื่อง

การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของปลาน้ำจืดบางชนิดและผลของจำนวนอสุจิ
ที่มีต่ออัตราการผสมติด

Study on Semen Qualities of Some Freshwater Fishes and Effect of
Sperm Number Per Egg on Fertilization Rate

โดย

รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

รศ. สมศักดิ์ บัณฑุชัย

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

กรุงเทพฯ 10520

SH

พ.ศ. 2543

159

เลขหมู่.....ด319.5

เลขทะเบียน.....39226

วัน, เดือน, ปี 29 ส.ค. 2544

.b.....

.i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่องานวิจัย

เรื่อง

การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของปลาน้ำจืดบางชนิดและผลของจำนวนอสุจิ
ที่มีต่ออัตราการผสมติด

Study on Semen Qualities of Some Freshwater Fishes and Effect of
Sperm Number Per Egg on Fertilization Rate

จากการศึกษาพบว่าปลาตะเพียนขาวและปลาไนมีปริมาณน้ำเชื้อแปรผันตามน้ำหนักตัว
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปลาอุกอุยมีน้ำหนักอัมตะแปรผันตามน้ำหนักตัวอย่างมีนัยสำคัญทาง
สถิติ โดยน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาอุกอุยมีความเข้มข้นของอสุจิเฉลี่ย $27,170 \times 10^6$
 $32,115 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ $1,887 \times 10^6$ เซลล์ต่อน้ำเกลือ 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ

การปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาวปลาไนและปลาอุกอุยด้วยน้ำเชื้อที่มีอัตราการ
เคลื่อนไหว 90 90 และ 80 % ตามลำดับ โดยมีจำนวนอสุจิ 4×10^4 6×10^4 8×10^4 และ
 10×10^4 เซลล์ต่อไข่ 1 ฟอง พบว่าอัตราการปฏิสนธิมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
ในปลาตะเพียนขาวและปลาอุกอุย แต่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในปลาไน



การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของปลาน้ำจืดบางชนิดและผลของจำนวนอสุจิ
ที่มีต่ออัตราการผสมติด

Study on Semen Qualities of Some Freshwater Fishes and Effect of
Sperm Number Per Egg on Fertilization Rate

คำนำ

การเพาะขยายพันธุ์ปลาโดยวิธีการผสมเทียมที่กระทำกันอยู่โดยทั่วไปยังไม่มีการคำนึงถึงความเหมาะสมของจำนวนอสุจิต่อจำนวนไข่อย่างเข้มงวดจริงจัง ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่าปลาหลายชนิดสามารถหาพ่อพันธุ์และเก็บน้ำเชื้อได้ง่าย หรือสามารถนำพ่อพันธุ์กลับมาใช้ใหม่ได้หลายครั้ง จึงทำให้การศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับน้ำเชื้อปลาชนิดต่างๆ ของประเทศไทยมีน้อย แต่ปลาบางชนิดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เช่นปลาดุกกอย การเพาะขยายพันธุ์ปลาชนิดนี้โดยวิธีการผสมเทียมนั้นพ่อพันธุ์จะต้องตายในขบวนการเก็บน้ำเชื้อ ดังนั้นหากทราบข้อมูลว่าควรจะใช้จำนวนอสุจิต่อจำนวนไข่อย่างไรจึงจะเหมาะสมเพื่อให้มีประสิทธิภาพดีต่อการปฏิสนธิ ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งทั้งในแง่ของเศรษฐกิจและการสงวนพ่อพันธุ์ปลา นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางในการเพาะขยายพันธุ์ปลาบางชนิดที่หายากหรือใกล้สูญพันธุ์ได้อีกด้วย

ในงานผสมเทียมปลาจะมีความเกี่ยวข้องทั้งในด้านการรีดเก็บน้ำเชื้อ การประเมินลักษณะและคุณภาพน้ำเชื้อ การเจือจางน้ำเชื้อด้วยสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่ให้ผลดีต่อการเก็บรักษาทั้งในสภาพน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็ง และการนำน้ำเชื้อไปผสมกับไข่เพื่อให้เกิดการปฏิสนธิและฟักออกเป็นตัว การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อมีวัตถุประสงค์เพื่อการคาดคะเนความสามารถของน้ำเชื้อในการผสมกับไข่ เป็นเกณฑ์ในการศึกษาผลกระทบของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อและเป็นข้อมูลในการคำนวณเพื่อกำหนดอัตราการเจือจางให้มีจำนวนอสุจิที่เหมาะสมต่อการผสมเทียม (กฤษณ์, 2536) ในกรณีของโค่น้ำเชื้อเมื่อเจือจางแล้วควรให้มีอสุจิที่มีชีวิตไม่น้อยกว่า 10 ล้านตัวต่อโดส สำหรับการผสมเทียมหนึ่งครั้ง แต่ปลาเกือบทุกชนิดในเมืองไทยจำนวนอสุจิที่ใช้ต่อจำนวนไข่ในการผสมเทียมแต่ละครั้งยังไม่มีความมาตรฐานที่แน่นอน ส่วนใหญ่เป็นการผสมโดยประมาณการมากกว่า ซึ่งอาจจะมีจำนวนอสุจิน้อยเกินไปจนเกิดผลเสียต่อการผสม หรืออาจมีจำนวนอสุจิมากเกินไปจนเป็นการสิ้นเปลืองโดยเปล่าประโยชน์ ในการวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของปลาบางชนิด ได้แก่ ปลาทะเพียนขาว (Common Silver Barb, *Puntius gonionotus*) ปลาไน (Common Carp, *Cyprinus carpio*) และปลาดุกกอย (Walking Catfish, *Clarias macrocephalus*) และจำนวนอสุจิต่อปริมาณไข่ที่มีผลต่อการผสม

วัตถุประสงค์

1. เพื่อประเมินคุณภาพน้ำเชื้อของปลาตะเพียนขาว ปลาไนและปลาดุกอุย ทั้งในด้านการเคลื่อนไหวของอสุจิ ความเข้มข้นของอสุจิ รูปร่างลักษณะของอสุจิ อสุจิที่มีชีวิต และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง
2. เพื่อศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของจำนวนอสุจิต่อปริมาณไข่ที่ให้ผลดีต่ออัตราการผสมในปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุย



การตรวจเอกสาร

การเก็บน้ำเชื้อปลา

การเก็บรวบรวมน้ำเชื้อปลาโดยทั่วไปมี 3 วิธี (อุทัยรัตน์, 2525) คือ

1. รีดโดยตรงจากตัวปลา โดยกดไล่เบาๆ ตรงส่วนท้องจากตอนหน้ามายังตอนท้าย
2. โดยใช้เข็มฉีดยาดูดจากช่องเปิดของน้ำเชื้อ
3. ผ่าท้องปลา แล้วนำอวัยวะออกไปขยี้ผ่านผ้ากรองในน้ำเกลือ 0.6–0.9 %

ลักษณะทั่วไปของน้ำเชื้อปลาและตัวอสุจิ

ลักษณะของน้ำเชื้อปลา (milt) มีสีขาวคล้ายน้ำมัน กลิ่นคาวจัด ปริมาณน้ำเชื้อและความเข้มข้นอสุจิในปลาแต่ละตัวจะแตกต่างกันตามชนิด ขนาด อายุ ความสมบูรณ์เพศ ฤดูกาลและสิ่งแวดล้อม (Lagler และคณะ, 1977) เช่น ปลา muskellunge และปลา yellow perch มีจำนวนอสุจิเฉลี่ย $17.9 \pm 2.0 \times 10^6$ และ $48.5 \pm 1.6 \times 10^6$ เซลล์ต่อตัวตามลำดับ (Ciereszko และคณะ, 1999) ปลานิลมีความเข้มข้นอสุจิเฉลี่ย 5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Rana และ Mcandrew, 1989) ปลา trout และปลา pike มีความเข้มข้นอสุจิ $10 - 40 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปลาไนมีความเข้มข้นอสุจิ 14×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Billard, 1988) อสุจิปลาประกอบด้วย 3 ส่วนคือ หัว midpiece และหาง ขนาดของอสุจิปลาจะแตกต่างกันตามชนิดของปลา เช่น อสุจิของปลาไนส่วนหัวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 ไมครอน ส่วนหางยาว 38 ไมครอน อสุจิปลาตะเพียนขาวส่วนหัวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ไมครอน ส่วนหางยาว 38 ไมครอน (นลินีและคณะ, 2526) อสุจิของปลาบึกมีขนาดความยาวของส่วนหัว ส่วนกลางและส่วนหางเท่ากับ 2 25 และ 30 ไมครอนตามลำดับ (วีรชัย, 2535) โดยทั่วไปอสุจิปลาเมื่ออยู่ในท่อน้ำเชื้อ (genital tract) หรือเมื่อรีดได้จะไม่เคลื่อนไหว แต่เมื่ออยู่ในน้ำจะมีการเคลื่อนไหวแบบปราดเปรียวซึ่งต่างจากน้ำเชื้อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่รีดออกมาแล้วอสุจิจะมีการเคลื่อนไหวทันที อสุจิปลาที่ได้รับการกระตุ้นให้เคลื่อนไหวแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของปลา (Billard, 1988 ; ศักดิ์ชัย, 2538) การเคลื่อนไหวของอสุจิในกลุ่มปลาแซลมอนจะอยู่ในระหว่าง 3 วินาที ถึง 1 นาที ถ้ากระตุ้นด้วยน้ำจืดและจะเคลื่อนไหวได้หลายนาทีถ้าอยู่ในน้ำเกลือ อสุจิปลา sea bass จะเคลื่อนไหวได้ 1-5 นาที ถ้าอยู่ในสารละลายความเค็ม 20 ส่วนในพันส่วน อสุจิปลาแฮร์ริงสามารถเคลื่อนไหวอยู่ได้หลายวัน (Billard, 1978 ; Billard และคณะ , 1977; Yanagimachi, 1953; Dusking, 1973 อ้างโดย Billard, 1988)

อัตราส่วนของจำนวนอสุจิต่อการปฏิสนธิกับไข่

เมื่อนำน้ำเชื้อสดของปลาใน 1 มิลลิลิตรผสมกับไข่ 1 กรัม จะมีอัตราการปฏิสนธิ 70 % และอัตราการปฏิสนธิจะลดลงอย่างมากเมื่อเพิ่มไข่เป็น 100 กรัม การใช้น้ำเชื้อแช่แข็งที่มีอายุเก็บรักษานาน 342 วัน ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมกับไข่ 5 กรัม จะมีอัตราการปฏิสนธิ 31 % และเมื่อเพิ่มปริมาณไข่เป็น 10 และ 50 กรัม อัตราการปฏิสนธิจะลดลงเหลือ 25 และเกือบ 0 % ตามลำดับ (Kurokura และคณะ, 1988) การปฏิสนธิของปลาในจะลดลงเมื่อนำน้ำเชื้อสดที่มีจำนวนอสุจิต่อไข่ลดลง โดยในไข่ดีถ้าใช้น้ำเชื้อสดที่มีจำนวนอสุจิ $6 \times 10^4 - 2 \times 10^6$ เซลล์ต่อไข่ 1 ฟอง จะมีการปฏิสนธิ 81 % จำนวนอสุจิ $8 \times 10^3 - 2 \times 10^6$ ต่อไข่ 100 มิลลิลิตร มีการปฏิสนธิ 54 % จำนวนอสุจิ 10^3 เซลล์ต่อไข่ 1 ฟอง มีการปฏิสนธิ 0 % ในไข่ไม่ดีน้ำเชื้อสดที่มีจำนวนอสุจิ 2×10^6 เซลล์ต่อไข่ 1 ฟอง จะมีการปฏิสนธิ 42 % การผสมปกติควรใช้อสุจิอย่างน้อย 6×10^4 หรือ 300 ไมโครลิตรต่อไข่ 100 มิลลิลิตร (Favci และคณะ, 1991 อ้างโดย เกรียงศักดิ์, 2540)



อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ปลาที่ใช้ทดลอง ได้แก่ ปลาทะเพียนขาว ปลาไน และปลาคูอุย
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลา
 - 2.1 กล้องจุลทรรศน์
 - 2.2 สไลด์และกระจกปิดสไลด์
 - 2.3 Hemocytometer
 - 2.4 Dilution pipette
 - 2.5 กระจายลิตมีสวัดค่าความเป็นกรดต่าง
 - 2.6 ตะเกียงอัลกอฮอล์
 - 2.7 น้ำเกลือ 0.9 % เพื่อเจือจางน้ำเชื้อ
 - 2.8 ติย้อม Eosin – Nigrosin
3. อุปกรณ์การผสมเทียมปลา
 - 3.1 สอร์โมนตั้งเคราะห์ suprefact และ motilium
 - 3.2 หลอดฉีดขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรพร้อมเข็มฉีดยา เบอร์ 24
 - 3.3 ยาสดปลา
 - 3.4 ชุดผ่าตัด
 - 3.5 น้ำเกลือ 0.9 %
 - 3.6 กะละมังเคลือบ
 - 3.7 เครื่องชั่ง ชนิด 1 กิโลกรัม
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดชั่งได้อย่างละเอียดตสนิยม 4 ตำแหน่ง
5. อุปกรณ์การตรวจสอบการปฏิสนธิ
โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ(stereo)ที่สามารถต่อสัญญาณภาพเข้าวงจรโทรทัศน์ได้

วิธีการ

1. ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อ

1.1 ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของปลาดูเพียนขาวเพศผู้ ปลาโนเพศผู้ และปลาดุกอุยเพศผู้ จำนวน 12 10 และ 13 ตัวตามลำดับ

1.2 ปลาดูเพียนขาวและปลาโนเก็บน้ำเชื้อออกจากตัวปลาโดยการรีดใส่หลอดวัดปริมาตรเป็นลูกบาศก์เซนติเมตร ส่วนในปลาดุกอุยใช้วิธีการผ่าเปิดช่องท้องนำอวัยวะออกมา ชั่งน้ำหนัก ห่อด้วยผ้าโอลอนแก้ว บีบอวัยวะให้ละเอียด ล้างด้วยน้ำเกลือ 0.9 % ปริมาตร 5 ลูกบาศก์เซนติเมตรเพื่อให้ได้น้ำเชื้อออกมา

1.3 วัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อปลาด้วยกระดาษลิตมัส

1.4 ตรวจสอบการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้น้ำกลั่นกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิตามวิธีการของ Suquet และคณะ (1992)

1.5 ตรวจสอบความเข้มข้นของเซลล์อสุจิด้วยวิธี hemocytometer โดยใช้สไลด์ชนิด Neubauer

1.6 ตรวจสอบนับตัวเป็นตัวตายของเซลล์อสุจิโดยใช้หลักการย้อมสี eosin – nigrosin

1.7 วัดขนาดหัวและหางของเซลล์อสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

2. ศึกษาอัตราการปฏิสนธิ

2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มทดลองโดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ใช้จำนวนอสุจิ 12×10^6 ตัวต่อไข่ 300 ฟอง หรือ 4×10^4 ตัวต่อฟอง

กลุ่มที่ 2 ใช้จำนวนอสุจิ 18×10^6 ตัวต่อไข่ 300 ฟอง หรือ 6×10^4 ตัวต่อฟอง

กลุ่มที่ 3 ใช้จำนวนอสุจิ 24×10^6 ตัวต่อไข่ 300 ฟอง หรือ 8×10^4 ตัวต่อฟอง

กลุ่มที่ 4 ใช้จำนวนอสุจิ 30×10^6 ตัวต่อไข่ 300 ฟอง หรือ 10×10^4 ตัวต่อฟอง

ในปลาตะเพียนขาวและปลาคुकอยแต่ละกลุ่มให้อุจจาระเข้าปฏิสนธิกับไข่จำนวน 300 ฟอง กลุ่มละ 4 ซ้ำ ส่วนในปลาในกลุ่มละ 3 ซ้ำ

2.2 การเตรียมพ่อแม่พันธุ์ นำเชื้อ ไข่ปลา และวิธีการตรวจสอบการปฏิสนธิ

2.2.1 ปลาตะเพียนขาวและปลาในกระตุนแม่ปลาให้ตกไข่โดยฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ suprefact 10 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม motilium 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ทิ้งไว้ 8 ชั่วโมงนำมารีดไข่ ส่วนพ่อพันธุ์ไม่ฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์

2.2.2 ปลาคुकอย กระตุนแม่ปลาให้ตกไข่และพ่อปลาให้น้ำเชื้อสมบูรณ์ กระตุนแม่ปลาโดยการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ suprefact จำนวน 2 ครั้ง ห่างกันเป็นเวลาประมาณ 6 ชั่วโมง ในอัตราความเข้มข้นเท่ากันคือฉีด suprefact 10 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม motilium 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม หลังจากฉีดครั้งที่ 2 แล้วประมาณ 8 - 11 ชั่วโมงจึงนำมารีดไข่ ส่วนพ่อปลากระตุนเพียงครั้งเดียว โดยฉีดพร้อมกับการฉีดแม่ปลาครั้งที่ 2 ในความเข้มข้นเดียวกัน

2.2.3 นำเชื้อที่เก็บได้ในปลาแต่ละชนิดนำมาตรวจสอบการเคลื่อนไหว และหาความเข้มข้นอุจจาระพร้อมทั้งเจือจางเพื่อให้ได้จำนวนอุจจาระตามที่กำหนดไว้

2.2.4 ขั้นตอนการเตรียมไข่ปลา

2.2.4.1 ชั่งไข่ปลาประมาณ 0.5 - 1 กรัม แล้วนับจำนวนไข่เพื่อคำนวณหาคำนวน้ำหนักเฉลี่ยต่อฟอง ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

2.2.4.2 คำนวณหาน้ำหนักไข่ 300 ฟอง

2.2.4.3 ชั่งไข่ปลาตามน้ำหนักที่คำนวณได้เพื่อนำไปใช้ในการทดลอง

2.2.5 ขั้นตอนตรวจสอบการปฏิสนธิ

ปลาตะเพียนขาว ตรวจสอบการปฏิสนธิหลังการผสมประมาณ 20 นาที โดยส่องกับแสงจะพบว่าไข่ที่มีการปฏิสนธิจะมีลักษณะใสรอบๆ นิวเคลียสและเห็นนิวเคลียสชัดเจนอยู่ตรงกลาง ส่วนไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิจะมีลักษณะขุ่นขาวเต็มใบ

ปลาในและปลาคुकอย ตรวจสอบการปฏิสนธิหลังจากผสมไข่กับน้ำเชื้อแล้วประมาณ 22 ชั่วโมง ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo) แสดงภาพทางจอโทรทัศน์ ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจะมีการแบ่งเซลล์จนถึงขั้นเห็นตัวอ่อนชัดเจนและมีการเคลื่อนไหว

2.3 การบันทึกข้อมูล

2.3.1 ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของปลาที่จะประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

2.3.2 ผลการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

2.3.3 ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์ปลา

2.3.4 อัตราการปฏิสนธิ

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์หาความแปรปรวนของอัตราการปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุยด้วยวิธี Analysis of Variance และหาค่าระดับความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

2.5 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะขยายพันธุ์สัตว์น้ำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

2.6 ระยะเวลาการทดลอง

เมษายน - พฤศจิกายน 2542



ผลการทดลอง

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุย

จากการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวน้ำหนักตัวเฉลี่ย 121.5 ± 26.86 กรัม ความยาวเฉลี่ย 20.49 ± 1.73 เซนติเมตร พบว่ามีปริมาณน้ำเชื้อเฉลี่ย 0.5 มิลลิลิตร โดยปริมาตรน้ำเชื้อแปรผันตามน้ำหนักตัวปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$, $r = 0.685$) ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ย 7.04 อัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 87.50 % ความเข้มข้นของอสุจิเฉลี่ย $27,170 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร อสุจิมีชีวิตเฉลี่ย 98 % อสุจิที่มีลักษณะปกติเฉลี่ย 94.75 % ส่วนหัวอสุจิมีลักษณะกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 2.5 ไมครอน และส่วนหางอสุจิมีความยาวเฉลี่ย 30 ไมครอน (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1)

จากการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาไนพบว่า ปลาไนน้ำหนักตัวเฉลี่ย 451.6 ± 273.31 กรัม ความยาวเฉลี่ย 29.36 ± 5.21 เซนติเมตร มีปริมาณน้ำเชื้อเฉลี่ย 1.47 มิลลิลิตร โดยปริมาตรน้ำเชื้อแปรผันตามน้ำหนักตัวปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$, $r = 0.717$) ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ย 7 อัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 88.5 % ความเข้มข้นของอสุจิเฉลี่ย $32,115 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร อสุจิมีชีวิตเฉลี่ย 97.1 % อสุจิที่มีลักษณะปกติเฉลี่ย 91.2 % ส่วนหัวอสุจิมีลักษณะกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 2.5 ไมครอน และส่วนหางอสุจิมีความยาวเฉลี่ย 39.75 ไมครอน (ตารางที่ 1, ภาพที่ 2)

จากการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาดุกอุยพบว่า ปลาดุกอุยน้ำหนักตัวเฉลี่ย 119.46 ± 33.61 กรัม ความยาวเฉลี่ย 26.24 ± 2.5 เซนติเมตร มีน้ำหนักอณฑะเฉลี่ย 0.48 กรัม น้ำหนักอณฑะแปรผันตามน้ำหนักตัวปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ย 6.5 อัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 70.76 % ความเข้มข้นอสุจิเฉลี่ย $1,887 \times 10^6$ เซลล์ต่อน้ำเกลือ 1 มิลลิลิตร อสุจิมีชีวิตเฉลี่ย 79.69 % อสุจิที่มีลักษณะปกติเฉลี่ย 83 % ส่วนหัวอสุจิมีลักษณะรี ความกว้างเฉลี่ย 2 ไมครอน ความยาวเฉลี่ย 3 ไมครอน ส่วนหางอสุจิมีความยาวเฉลี่ย 67.5 ไมครอน (ตารางที่ 1, ภาพที่ 3)

การปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาว ปลาไนและปลาดุกอุย

จากการผสมน้ำเชื้อกับไข่ปลาตะเพียนขาวโดยใช้น้ำเชื้อที่มีอัตราการเคลื่อนไหว 90 % ด้วยจำนวนอสุจิ 4×10^4 6×10^4 8×10^4 และ 10×10^4 เซลล์ต่อฟอง พบว่ามีการปฏิสนธิ

99.33 99.33 99.67 และ 98.75 % ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางผนวกที่ 6)

จากการผสมน้ำเชื้อกับไข่ปลาในโดยใช้น้ำเชื้อที่มีการเคลื่อนไหว 90 % ด้วยจำนวนอสุจิ 4×10^4 6×10^4 8×10^4 และ 10×10^4 เซลล์ต่อฟอง พบว่ามีการปฏิสนธิ 66.54 72.34 74.58 และ 79.47 % ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 9) โดยเมื่อใช้จำนวนอสุจิ 4×10^4 เซลล์ต่อฟอง จะมีค่าการปฏิสนธิแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับเมื่อใช้จำนวนอสุจิ 6×10^4 เซลล์ต่อฟอง แต่มีค่าการปฏิสนธิต่ำกว่าเมื่อใช้จำนวนอสุจิ 8×10^4 และ 10×10^4 เซลล์ต่อฟอง ส่วนค่าการปฏิสนธิเมื่อใช้จำนวนอสุจิ 6×10^4 8×10^4 และ 10×10^4 เซลล์ต่อฟอง มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการผสมน้ำเชื้อกับไข่ปลาอุกอุยโดยใช้น้ำเชื้อที่มีการเคลื่อนไหว 80 % ด้วยจำนวนอสุจิ 4×10^4 6×10^4 8×10^4 และ 10×10^4 เซลล์ต่อฟองพบว่ามีการปฏิสนธิ 64.58 69.50 73.17 และ 86.33 % ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 12)

วิจารณ์ผล

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไนและปลาอุกอุย

น้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวที่รีดได้มีลักษณะขาวขุ่นคล้ายนํ้านมและกลิ่นควจัดสอดคล้องกับอุทัยรัตน์ (2525) และกองส่งเสริมประมง (2529) ที่กล่าวว่า น้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวมีสีขาวขุ่นคล้ายนํ้านม และมีปริมาตรสอดคล้องกับบลินีและคณะ (2526) ที่รายงานว่าปลาตะเพียนขาวมีปริมาตรน้ำเชื้อประมาณ 0.5 มิลลิลิตร น้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวมีสมบัติเป็นกลางสอดคล้องกับบลินีและคณะ (2526) ที่รายงานว่าน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 7.3 จำนวนอสุจิที่มีชีวิตมีค่าสูงเช่นเดียวกับบลินีและคณะ (2526) ที่รายงานว่าอสุจิที่มีชีวิตมีค่าเฉลี่ย 86.3 % ขนาดหัวและความยาวหางของอสุจิปลาตะเพียนขาวมีค่าใกล้เคียงกับบลินีและคณะ (2526) ที่รายงานว่าหัวของอสุจิปลาตะเพียนขาวมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ไมครอน หางยาว 38 ไมครอน

น้ำเชื้อปลาไนที่รีดได้มีลักษณะสอดคล้องกับการรายงานของพินิจและโยธิน (2527) ที่กล่าวว่าน้ำเชื้อปลาไนมีสีขาวคล้ายนํ้านม แต่มีปริมาตรน้อยกว่าการทดลองของเกรียงศักดิ์ (2540) ที่รายงานว่า ปลาไนน้ำหนักเฉลี่ย 1.87 กิโลกรัมจะให้ปริมาณน้ำเชื้อ 4.03 มิลลิลิตร สาเหตุที่ปริมาตรอสุจิต่ำกว่าคงเนื่องมาจากขนาดของปลาไนที่ใช้ในการทดลองมีขนาดเล็กกว่าซึ่งสอดคล้อง

กับการรายงานของ Lagler และคณะ (1977) นอกจากนั้นแล้วยังมีสมบัติเป็นกลางเช่นเดียวกับปลาตะเพียนขาว (นลินีและคณะ, 2526) ค่าความเข้มข้นของออกซิเจนสูงกว่าการรายงานของ Billard (1988) และเกรียงศักดิ์ (2540) ที่รายงานว่าความเข้มข้นเฉลี่ยของปลาไนที่ไม่มีติดต่อกับน้ำดื่มมีค่า $24,000 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ขนาดของหัวออกซิเจนมีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางใกล้เคียงกับออกซิเจนของปลาตะเพียนขาว แต่ความยาวของส่วนหางมากกว่าออกซิเจนของปลาตะเพียนขาว

น้ำเชื้อปลาอุกอุยมีค่าออกซิเจนที่มีชีวิต จำนวนออกซิเจนปกติและการเคลื่อนไหวต่ำกว่าออกซิเจนของปลาตะเพียนขาวและปลาไนเพราะว่า การบดขยี้สัมพันธ์กับน้ำเกลือ จะมีเลือดและเศษเนื้อปนในน้ำเชื้อ ส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อด้อยลง (อุทัยรัตน์, 2535)

การปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาอุกอุย

ค่าการปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาวสอดคล้องกับเกิดฉาย (2538) ที่รายงานว่า วิธีการเพาะพันธุ์ปลาตะเพียนขาวโดยการผสมเทียมมีค่าการปฏิสนธิ 89.33 - 100 % ค่าการปฏิสนธิในปลาไนสอดคล้องกับ Favvel และคณะ (1991) อ้างโดยเกรียงศักดิ์ (2540) รายงานว่า การผสมเทียมปลาไนยุโรปที่ใช้ความเข้มข้นของออกซิเจน 6×10^4 เซลล์ต่อฟองมีค่าการปฏิสนธิ 81 % ความเข้มข้นของออกซิเจน 8×10^3 และ 10^3 เซลล์ต่อฟองมีค่าการปฏิสนธิ 54 % และ 0 % ตามลำดับ การปฏิสนธิในปลาอุกอุยมีค่าสูงขึ้นโดยแปรผันตามระดับความเข้มข้นของออกซิเจนที่มากขึ้น การปฏิสนธิในปลาอุกอุยโดยภาพรวมมีค่าใกล้เคียงกับภฤชนัน (2536) ที่กล่าวว่าค่าการปฏิสนธิของปลาอุกอุยอยู่ในช่วง 68.3 ± 3.6 % ค่าการปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาวจะสูงกว่าปลาไนและปลาอุกอุยเพราะว่าไข่ปลาไนและไข่ปลาอุกอุยเป็นไข่จมติดกับวัตถุ โดยจากการสังเกตพบว่าไข่ปลาไนเมื่อถูกน้ำจะเกาะติดกับภาชนะทันทีทั้งภาชนะที่ทำด้วยแก้วหรือกะละมังเคลือบและติดกันเองแน่นเป็นแพ แต่ในปลาอุกอุยการเกาะติดจะรุนแรงน้อยกว่าอีกทั้งไม่ติดภาชนะที่เป็นกะละมังเคลือบและไม่ติดกันเองแน่นมาก การยึดเกาะติดวัตถุและติดกันเองทำให้เป็นอุปสรรคต่อการกวนไข่ให้คลุกเคล้ากับน้ำเชื้อ และมีผลทำให้ค่าการปฏิสนธิต่ำ แต่อย่างไรก็ตามค่าการปฏิสนธิในปลาทั้ง 3 ชนิดจะสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของออกซิเจน

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยขนาดปลา ปริมาณน้ำเชื้อ และคุณภาพน้ำเชื้อของปลาคะเพียนขาว ปลาไน และปลาคูกอูย

	ชนิดปลา		
	ปลาคะเพียนขาว	ปลาไน	ปลาคูกอูย
1. น้ำหนักปลา (ก.)	121.50 ± 26.86	451.6 ± 273.31	119.46 ± 33.61
2. ความยาว (ซม.)	20.49 ± 1.73	29.36 ± 5.21	26.24 ± 2.50
3. น้ำหนักอวัยวะ (ก.)	-	-	0.48
4. ปริมาณน้ำเชื้อ (มล.)	0.5	1.47	-
5. ความเป็นกรดเป็นด่าง	7.04	7	6.5
6. ความเข้มข้นอสุจิ (× 10 ⁶ เซลล์/มิลลิลิตร)	27,170	31,708	1,887*
7. การเคลื่อนไหวอสุจิ (%)	87.50	85.50	70.76
8. อสุจิมิชีวิต (%)	98	97.10	79.69
9. อสุจิที่มีลักษณะปกติ (%)	94.75	91.20	83
10. ขนาดหัวอสุจิ (เส้นผ่านศูนย์กลาง, μ)	2.50	2.50	2 **
11. ขนาดหางอสุจิ (μ)	30	39.75	3 ***

* หมายถึง เป็นเซลล์ต่อน้ำเชื้อ 1 มิลลิลิตร

** หมายถึง ความกว้าง

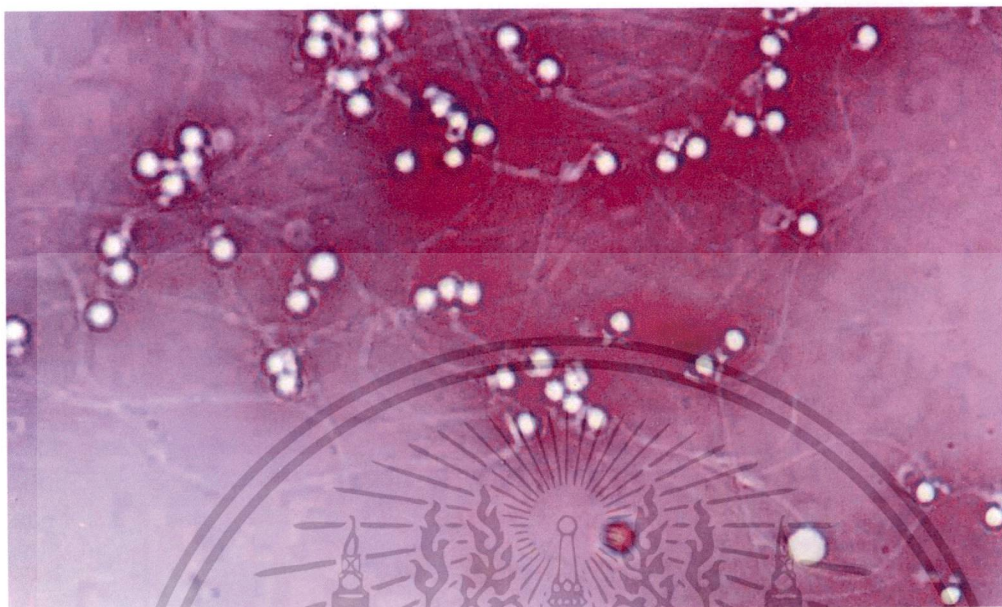
*** หมายถึง ความยาว

ตารางที่ 2 อัตราการปฏิสนธิของปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุย โดยใช้จำนวนอสุจิแตกต่างกัน

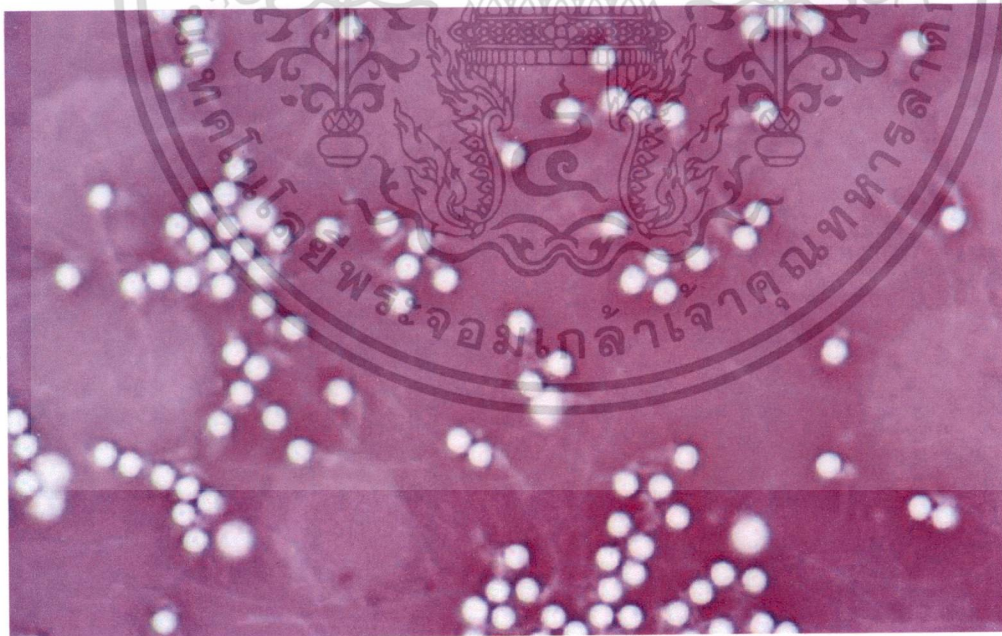
ชนิดปลา	จำนวนอสุจิ (เซลล์ต่อฟอง)			
	4×10^4	6×10^4	8×10^4	10×10^4
ปลาตะเพียนขาว	99.33 ^a	99.33 ^a	99.67 ^a	98.75 ^a
ปลาไน	66.54 ^a	72.34 ^{ab}	74.58 ^b	79.47 ^b
ปลาดุกอุย	64.58 ^a	69.50 ^a	73.17 ^a	80.33 ^a

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



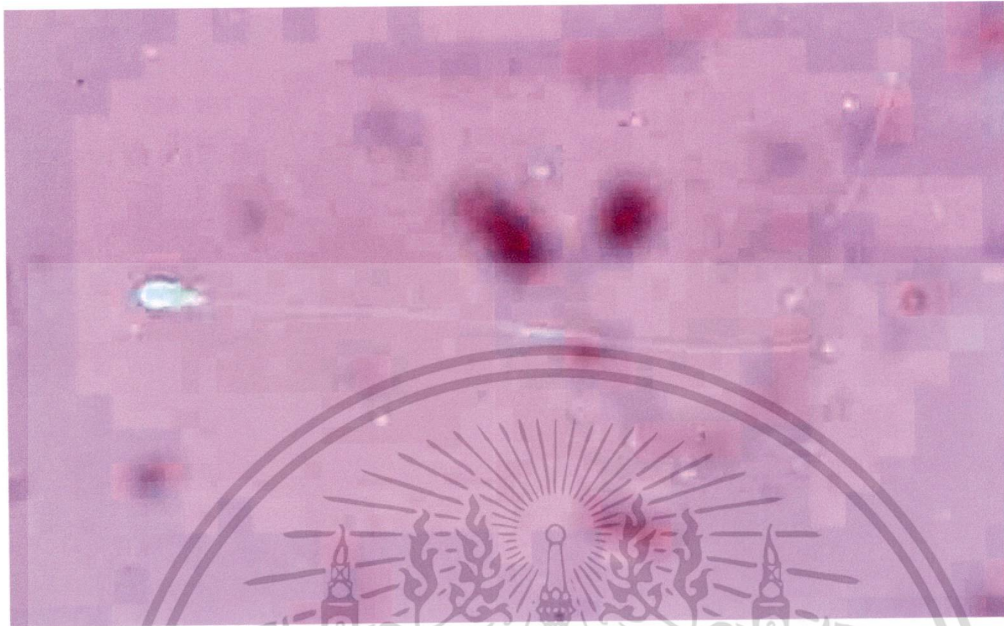


ภาพที่ 1 อสุจิปลาดะเพียนขาว



ภาพที่ 2 อสุจิปลาไน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 อสุจิปลาอุกอุย



สรุป

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุย

ปลาตะเพียนขาวมีปริมาณน้ำเชื่อน้อยกว่าปลาไน ซึ่งปลาทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณน้ำเชื้อแปรผันตามน้ำหนักตัวปลา โดยน้ำเชื้อมีสมบัติเป็นกลาง อัตราการเคลื่อนไหว จำนวนที่มีชีวิต และจำนวนที่มีลักษณะปกติของอสุจิมีค่าอยู่ในระดับสูงเหมือนกัน แต่ค่าความเข้มข้นอสุจิของปลาตะเพียนขาวต่ำกว่าของปลาไน ส่วนหัวอสุจิของปลาทั้ง 2 ชนิดมีรูปร่างกลมและขนาดใกล้เคียงกัน แต่ส่วนหางอสุจิของปลาตะเพียนขาวสั้นกว่าของปลาไนเล็กน้อย ในปลาดุกอุยน้ำหนักอสุจิแปรผันตามน้ำหนักตัวปลา น้ำเชื้อมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำกว่าของปลาตะเพียนขาวและปลาไน อัตราการเคลื่อนไหว ความเข้มข้น จำนวนที่มีชีวิตและจำนวนที่มีลักษณะปกติของอสุจิมีค่าอยู่ในระดับต่ำกว่าของปลาตะเพียนขาวและปลาไน ส่วนหัวอสุจิมีลักษณะรี ส่วนหางอสุจมีความยาวกว่าของปลาตะเพียนขาวและปลาไนประมาณ 2 เท่า

การปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาว ปลาไนและปลาดุกอุย

การปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาว ปลาไนและปลาดุกอุยโดยใช้จำนวนอสุจิต่อไข่ในอัตรา 4×10^4 6×10^4 8×10^4 และ 10×10^4 เซลล์ต่อฟอง ในปลาตะเพียนขาวให้อัตราการปฏิสนธิสูงกว่าในปลาไนและปลาดุกอุย และปลาไนมีค่าสูงกว่าปลาดุกอุย อัตราการปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาวมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสามารถใช้น้ำเชื้อที่มีอัตราการเคลื่อนไหว 90 % ผสมกับไข่ในอัตราจำนวนอสุจิ 4×10^4 เซลล์ต่อฟอง อัตราการปฏิสนธิในปลาไนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยควรใช้น้ำเชื้อที่มีอัตราการเคลื่อนไหว 90 % ผสมกับไข่ในอัตราจำนวนอสุจิ 6×10^4 เซลล์ต่อฟอง ส่วนอัตราการปฏิสนธิในปลาดุกอุยมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าการใช้จำนวนอสุจิที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นจะให้ค่าอัตราการปฏิสนธิเพิ่มขึ้นด้วย

เอกสารอ้างอิง

- กฤษณ์ มงคลปัญญา. 2536. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 128 น.
- กองส่งเสริมประมง. 2529. การผสมเทียมปลาตะเพียนขาว. หจก. ศรีเดชา, กรุงเทพฯ. 12 น.
- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2540. คุณภาพของอสุจิสดและอัตราการผสมของไข่ปลาในยุโรปโดยน้ำเชื้อแช่แข็ง. วารสารการประมง. 50 (1) : 47-54.
- นลินี มารคแมน, กฤษณ์ มงคลปัญญา, อุทัยรัตน์ ณ นคร และ ประวิทย์ สุรนิรนาถ. 2526. ความล้มเหลวในความพยายามเก็บน้ำเชื้อของปลาเพื่อประโยชน์ในการผสมเทียม น. 55 – 73 ใน รายงานการประชุมทางวิชาการ. ครั้งที่ 21. สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พินิจ สี่หทัยเกียรติ และโยธิน สีนานนท์. 2527. ชีวิตประวัติและการเพาะเลี้ยงปลาตะเพียนขาว. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 51 น.
- วีระชัย โชติรัตนศักดิ์. 2535. การศึกษาลักษณะทางมิถุนวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ในปลาบึก (*Pangasius gigas* (chevey)). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2538. การเพาะและอนุบาลปลาน้ำจืด. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 191 น.
- อุทัยรัตน์ ณ นคร . 2525. การเพาะพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 130 น.
- _____ . 2535. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 239 น.
- Billard, R. , J. Dupont and G. Barnabe. 1977. Diminution de la motilité et de durée de conservation du sperme de *Dicentrarchus labrax* (poisson téléostéen) pendant la période de spermiation. Cited by R. Billard. 1998. Artificial insemination and gamete management in fish. Mar. Behav. Physiol. 14 :3-21.
- Billard, R. 1978. Changes in structure and fertilizing ability of marine and freshwater fish spermatozoa diluted in media of various salinities. Cited by R. Billard. 1988. Artificial insemination and gamete management in fish. Mar. Behav. Physiol. 14 : 3-21.

- Billard, R. 1988. Artificial insemination and gamete management in fish. *Mar. Behav. Physiol.* 14 : 3-21.
- Cierszko, A., K. Dabrowski , F. Lin, S.A. Christ and G.P. Toth. 1999. Effect of extenders and time of storage before freezing on motility and fertilization of cryopreserved Muskellunge spermatozoa. *Transactions of American Fisheries Society* . 128 : 542 – 548.
- Dushkina, L.A. 1973. Influence of salinity on eggs, sperm and larvae of low-vertebral herring reproducing in the coastal waters of the Soviet Union. Cited by R. Billard. 1988. Artificial insemination and gamete management in fish. *Mar. Behav. Physiol.* 14 : 3-21.
- Favvel, C., M. Suguet, M.H. Omnes and Y. Normant. 1991. Sperm requirements for artificial insemination of turbot eggs. อ้างโดย เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน. 2540. คุณภาพของอสุจิสดและอัตราการผสมของไข่ปลาไนยุโรปโดยน้ำเชื้อแช่แข็ง. *วารสารการประมง*. 50 (1) : 47-54.
- Kurokura, H. , R. Hirano, M. Tomita and M. Iwahashi. 1988. Cryopreservation of carp sperm. *Aquaculture*. 37 : 267-273.
- Lagler, K.F., J.E. Bardach, R.R. Miller and D.R. Maypassio. 1977. *Ictology*. 2nd. Ed. John Wiley & Sons, Inc., New York. 545 pp.
- Rana, K.J. and B. J. Mcandrew. 1989. The viability of cryopreserved tilapia spermatozoa. *Aquaculture*. 76 : 335-345.
- Suquet, M., M.H. Omnes, Y. Normant and C. Favvel. 1992. Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*) . *Aquaculture*. 101 : 177 – 185.
- Yanagimachi, R. 1953. Effect of environmental salt concentration on fertilizability of herring gametes. Cited by R. Billard . 1988. Artificial insemination and gamete mangement in fish. *Mar. Behav. Physiol.* 14 : 3-21.



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 คุณภาพน้ำเชื่อมปลาตะเพียนขาว

ปลาตัวที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	ค่าเฉลี่ย \pm SD
1. น้ำหนักตัวปลา (กรัม)	114	190	115	130	117	138	118	120	92	82	134	108	121.5 \pm 26.86
2. ความยาวตัวปลา (เซนติเมตร)	21.1	24.7	20.3	20.9	20	22	21.4	19.5	19	18	19.5	19.5	20.49 \pm 1.73
3. ปริมาณน้ำเชื้อ (มิลลิเมตร)	0.5	1.7	0.2	0.7	0.5	0.2	0.2	0.6	0.3	0.6	0.3	0.3	0.50 \pm 0.41
4. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	7	7	7	7	7	7	6.5	7	7	7	7	8	7.04 \pm 0.33
5. ความเข้มข้นออกซิ ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิเมตร)	28540	27210	30190	19950	29400	12980	20460	27860	28900	25610	37310	37630	27170 \pm 6958.4
6. Motility (เปอร์เซ็นต์)	85	85	85	85	90	85	85	90	90	90	90	90	87.5 \pm 2.61
7. อสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	99	98	97	99	99	98	99	98	97	97	99	96	98 \pm 1.04
8. อสุจิที่มีลักษณะปกติ (เปอร์เซ็นต์)	96	98	96	95	95	97	98	94	92	93	95	88	94.75 \pm 2.80
8.1 ขนาดของส่วนหัว (ไมครอน)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5 \pm 0
8.2 ขนาดของหาง (ไมครอน)	32.5	30	30	30	30	30	30	30	32.5	27.5	27.5	30	30 \pm 1.50

ตารางผนวกที่ 2 คุณภาพน้ำเชื้อปลาใน

ปลาตัวที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	ค่าเฉลี่ย \pm SD
1. น้ำหนักตัวปลา (กรัม)	260	906	200	300	400	400	400	1000	300	350	451 \pm 272.04
2. ความยาวตัวปลา (เซนติเมตร)	25	37	25	25.5	29.2	28	27.5	40.5	27.5	28.4	29.36 \pm 5.21
3. ปริมาณน้ำเชื้อ (มิลลิลิตร)	0.15	1.9	2.0	0.4	1.5	2.5	0.5	4.5	0.6	0.7	1.47 \pm 1.32
4. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7 \pm 0
5. ความเข้มข้นอสุจิ ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร)	19340	23930	49430	45450	45450	18760	22570	20120	22930	49480	32115 \pm 14109.57
6. Motility (เปอร์เซ็นต์)	90	90	85	90	90	85	90	85	90	90	88.5 \pm 2.41
7. อสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	96	95	98	96	98	99	97	96	98	98	97.1 \pm 1.28
8. อสุจิที่มีลักษณะปกติ (เปอร์เซ็นต์)	89	92	94	90	91	89	96	92	90	89	91.2 \pm 2.34
8.1 ขนาดของส่วนหัว (ไมครอน)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5 \pm 0
8.2 ขนาดของหาง (ไมครอน)	42.5	37.5	40	40	37.5	40	40	42.5	37.5	40	39.75 \pm 1.84

ตารางผนวกที่ 3 คุณภาพน้ำเชื่อมปลาตากอบ

ปลาตัวที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	ค่าเฉลี่ย ±SD
1. น้ำหนักตัวปลา (กรัม)	190	158	140	73	122	104	102	142	132	118	112	88	72	119.46 ± 33.61
2. ความยาวตัวปลา (เซนติเมตร)	30	29	28	22	29.5	24.7	24.7	28.3	26.4	25	26	23.5	24.1	26.24 ± 2.50
3. น้ำหนักอวัยวะ (กรัม)	1.76	1.11	0.85	0.34	0.63	0.27	0.16	0.06	0.19	0.29	0.16	0.22	0.24	0.48 ± 0.49
4. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5 ± 0
5. ความเข้มข้นออกซิเจนที่ใช้น้ำเกลือ 1 มิลลิตร (x 10 ⁶ เซลล์/มิลลิลิตร)	2436	4896	6138	2232	2232	1140	1235	480	874	667	559	855	795.5	1887.65 ± 1759.77
6. จำนวนออกซิเจนต่อน้ำหนักอวัยวะ (x 10 ⁶ เซลล์/กรัม)	1384	4410	7221	6565	3543	4222	7719	8000	4600	2300	3494	3886	3315	4666.07 ± 2087.17
7. Motility (เปอร์เซ็นต์)	70	70	80	70	80	80	80	70	70	70	70	50	60	70.76 ± 8.62
8. อสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	79	78	86	81	90	84	82	66	78	75	71	80	86	79.69 ± 6.47
9. อสุจิที่มีลักษณะปกติ (เปอร์เซ็นต์)	88	86	81	88	83	80	81	82	86	78	82	82	82	82.84 ± 2.85
9.1 ขนาดความกว้างส่วนหัว (ไมครอน)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2 ± 0
9.2 ขนาดความยาวส่วนหัว (ไมครอน)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3 ± 0
9.3 ขนาดความยาวหาง (ไมครอน)	52.5	55	62.5	65	65	65	67.5	67.5	65	70	65	65	67.5	64.03 ± 4.95

ตารางผนวกที่ 4 น้ำหนัก ความยาวและลักษณะไข่ของแม่ปลาตะเพียนขาว

แม่ปลาดตัวที่	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	ลักษณะไข่
1	240	25.7	เมื่อดีสขาวโปร่งแสง
2	210	23.5	เมื่อดีสขาวโปร่งแสง
3	180	23.0	เมื่อดีสขาวโปร่งแสง
4	170	23.0	เมื่อดีสขาวโปร่งแสง
ค่าเฉลี่ย	200	23.8	

ตารางผนวกที่ 5 อัตราการปฏิสนธิปลาตะเพียนขาว (%)

ซ้ำที่	จำนวนอสุจิ (เซลล์ต่อฟอง)				ค่าเฉลี่ย
	4×10^4	6×10^4	8×10^4	10×10^4	
1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2	100.00	99.67	99.33	95.33	98.58
3	100.00	98.33	99.33	99.67	99.33
4	97.33	99.33	100.00	100.00	99.17
ค่าเฉลี่ย	99.33	99.33	99.67	98.75	

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการปฏิสนธิปลาตะเพียนขาว

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F-crit
Between Groups	1.737	3	0.579	0.302 ^{NS}	0.824	3.490
Within Groups	23.028	12	1.919			
Total	24.765	15				

NS หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 7 น้ำหนัก ความยาวและลักษณะไข่ของแม่ปลาไน

แม่ปลาตัวที่	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	ลักษณะไข่
1	700	32	น้ำตาลเหลือง
2	600	29.7	น้ำตาลส้ม
3	800	33.8	น้ำตาลเหลือง
ค่าเฉลี่ย	700	31.83	

ตารางผนวกที่ 8 อัตราการปฏิสนธิปลาไน (%)

ซ้ำที่	จำนวนอสุจิ (เซลล์ต่อฟอง)				ค่าเฉลี่ย
	4×10^4	6×10^4	8×10^4	10×10^4	
1	62.91	72.64	74.74	78.92	72.30
2	71.25	71.20	78.49	75.67	74.15
3	65.47	73.18	70.51	83.82	73.25
ค่าเฉลี่ย	66.54	72.34	74.58	79.47	

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการปฏิสนธิปลาไน

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F-crit
Between Groups	258.791	3	86.264	6.626*	0.015	4.066
Within Groups	104.145	8	13.018			
Total	362.936	11				

* หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 10 น้ำหนัก ความยาวและลักษณะไข่ของแม่ปลาอุกอุย

แม่ปลาตัวที่	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (เซนติเมตร)	ลักษณะไข่
1	128	26.6	เม็ดไข่สีน้ำตาล
2	308	34.2	เม็ดไข่สีน้ำตาล
3	120	25	เม็ดไข่สีน้ำตาล
4	217	28.1	เม็ดไข่สีน้ำตาล
ค่าเฉลี่ย	193.25	28.47	

ตารางผนวกที่ 11 อัตราการปฏิสนธิปลาอุกอุย (%)

ซ้ำที่	จำนวนอสุจิ (เซลล์ต่อฟอง)				ค่าเฉลี่ย
	4×10^4	6×10^4	8×10^4	10×10^4	
1	68.33	71.33	60.00	76.00	68.92
2	74.33	67.00	81.33	82.33	76.25
3	64.67	69.00	83.00	83.67	75.09
4	51.00	70.67	68.33	79.33	67.33
ค่าเฉลี่ย	64.58	69.50	73.17	86.33	

ตารางผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการปฏิสนธิปลาอุกอุย

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F-crit
Between Groups	528.052	3	176.017	3.018 ^{NS}	0.072	3.490
Within Groups	699.761	12	58.313			
Total	1227.813	15				

NS หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ