ประสิทธิภ นฮื้อ

Efficiency *itrix)*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520
Department of Fisheries Science Faculty of Agricultural Technology
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Bangkok 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

ประสิทธิภาพสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาลิ่นฮื้อ
(*Hypophthalmichthys molitrix*) ด้วยวิธีการแช่เย็น
Efficiency of 4 dilutors on silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)
spermatozoas by chilled-storage.

นาย สมเกียรติ [illegible]

อาจารย์ที่ปรึกษา

ได้พิจารณาเห็นชอ

อาจารย์ที่

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 30 เดือน มิ.ย. พ.ศ. 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง 23105

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ประสิทธิภาพสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาลิ่นฮื้อ (*Hypophthalmichthys molitrix*) ด้วยวิธีการแช่เย็น

Efficiency of 4 dilutors on silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) spermatozoas by chilled-storage.

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....15 JUN 2009

.b.....11885336.....
.i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ประสิทธิภาพสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาลิ่นฮื้อ (*Hypophthalmichthys molitrix)* ด้วยวิธีการแช่เย็น

Efficiency of 4 dilutors on silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix)* spermatozoas by chilled-storage

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร คือ extender-C, IM (Immobilizing M[illegible] 0.85% NaCl [illegible] ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาลิ่นฮื้อ (*Hypophthalmich*[illegible] extender-C สามารถเก็บรักษา[illegible]a-1 เก็บรักษา น้ำเชื้อได้นาน 96 [illegible]ะ0.85% NaCl สามารถเก็บรักษา[illegible]ของอสุจิเฉลี่ย 80±10.14, 83.33±[illegible]คลื่อนไหวของ อสุจิสูงสุดในสารเ[illegible]บรักษานาน 6 ชั่วโมง พบว่า สารเ[illegible]สูงกว่าสารเจือ จางน้ำเชื้อสูตรอื่น[illegible] หลังจากเก็บ รักษาน้ำเชื้อเป็นเว[illegible]ต์อสุจิที่มีชีวิต สูงกว่า สารเจือจาง[illegible]ร์เซ็นต์อสุจิที่มี ลักษณะผิดปกติ ([illegible]าคัญทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างส[illegible]ขึ้น มีผลทำให้ อสุจิมีลักษณะผิดปกติ (หางงอ) เพิ่มสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษของผม ที่คอยให้คำปรึกษา , แนะนำ และชี้แนะการแก้ไขปัญหาต่างๆ ให้ลุล่วง ตลอดจนตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษาด้านต่างๆ สอบถามการดำเนินการปัญหาพิเศษเรื่องนี้ คอยให้ความรู้ และสั่งสอนผมมาตลอดระยะเวลา 4 ปีนี้

ขอขอบพระคุณ คุณ น้ำเพชร น้อยเกิด ที่กรุณาเอื้อเฟื้อพันธุ์ปลาและสถานที่ในการทำปัญหาพิเศษ ครั้งนี้ จนประสบผลสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่นิพนธ์ จิตต์ตำนาน ที่เป็นผู้ควมคุม ดูแล ให้คำปรึกษา คอยจัดหาอุปกรณ์

ชี้แนะและช่วยแก้ไ ร็จ

ขอขอบคุ อื้อเฟื้ออุปกรณ์

และสถานที่ คอย ัญหาพิเศษใน

ครั้งนี้

ขอขอบคุ ห้การช่วยเหลือ

ร่วมทุกข์ ร่วมสุข กั

สุดท้ายนี้ข นกำลังใจ และ

ช่วยเหลือในทุกๆ ด้

นาย สมเกียรติ ใบตานี

เมษายน 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลองและวิจารณ์	16
สรุปการทดลอง	22
ข้อเสนอแนะ	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิปลาลิ่นฮื้อ ของสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ในการเก็บรักษาที่เวลาต่างๆ	17
2	แสดงเปอร์เซ็นต์ของอสุจิที่มีชีวิตของปลาลิ่นฮื้อของสารเจือจาง น้ำเชื้อ 4 สูตร ที่เก็บรักษาที่เวลาต่างๆ	18
3	แสดงเปอร์เซ็นต์ของอสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หัวโต) ของปลาลิ่นฮื้อ ในสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ	20
4	แสดง ในสา	21

ตารางผนวกที่		หน้า
1	เปอร์เ สูตร ที่	26
2	เปอร์เ เก็บรัก	27
3	เปอร์เ เจือจาง	28
4	เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีลักษณะที่ผิดปกติ (หางงอ) ของปลาลิ่นฮื้อในสาร เจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะของเซลล์อสุจิที่มีชีวิต	19
2	แสดงลักษณะของเซลล์อสุจิที่ผิดปกติ (หัวโต)	20
3	แสดงลักษณะของเซลล์อสุจิที่ผิดปกติ (หางงอ)	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปลาลิ่นฮื้อ หรือนิยมเรียกกันว่า ปลาเล่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า (*Hypophthalmichthys molitrix*) เป็นปลาที่อยู่ในครอบครัว (Family) เดียวกันกับปลาตะเพียน เป็นสายพันธุ์ปลาที่มีต้นกำเนิดมาจากประเทศจีน มีลักษณะ ลำตัวแบน เกล็ดเล็กละเอียด สีเงิน ท้องเป็นสันตั้งแต่คอหอยจรดครีบก้น หากินตามระดับกลางน้ำ ปลาชนิดนี้ได้ถูกนำเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย เนื่องจากเป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เลี้ยงง่าย เนื้อปลามีรสชาติดี แต่ปลาลิ่นฮื้อ จะไม่มีการผสมพันธุ์กันภายในบ่อ ทำให้ต้องนำเข้าลูกพันธุ์ปลาจากต่างประเทศ มีผลทำให้ขาดแคลนลูกพันธุ์ปลาเป็นจำนวนมาก ต่อมาปี พ.ศ. 2509 กรมประมง กองบำรุงพันธุ์สัตว์น้ำ ได้ทำการทดลองเพาะพันธุ์ปลาชนิด ...อย่างเพียงพอ การเก็บรักษาน้ำเชื้ ...ที่สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาใ ...and Zohar, 1999) ทำให้ง่ายต ...ตรียมและเก็บรักษาเอาไว้แล้ว สา ...ารจัดการมากขึ้นและลดขั้นตอนบ ...งนำมาเลี้ยงไว้ในบ่อเลี้ยง ทำให้ไ ...ในการผลิตไปด้วย

การเก็บรัก ...น้ำในการนำเทคโนโลยีมาใช้ใน ...นธุ์ให้มีความเหมาะสม รวมถึงก ...ที่อยู่ในตระกูลเดียวกันกับปลาลิ่นฮื้ ...ารศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารที่ใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อเพื่อยืดอายุการใช้งานของน้ำเชื้อ และใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการเก็บรักษาน้ำเชื้อในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์

1.เพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารเจือจางน้ำเชื้อใน การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาลิ่นฮื้อ (*Hypophthalmichthys molitrix*)

2.เพื่อทำการศึกษาวิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาลิ่นฮื้อ (*Hypophthalmichthys molitrix*) และใช้เป็นแนวทางในการศึกษาของปลาชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในตระกูลเดียวกันกับปลาลิ่นฮื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ปลาลิ่นฮื้อ

ปลาลิ่นฮื้อ หรือ ปลาเล่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า (*Hypophthalmichthys molitrix*) เป็นปลาที่อยู่ในครอบครัว (Family) เดียวกันกับปลาตะเพียน มีต้นกำเนิดมาจากลุ่มแม่น้ำแยงซีเกียง ประเทศจีน สามารถเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทยมีอยู่ 3 ชนิดที่เป็นที่นิยมในการเลี้ยง คือ ปลาเฉา หรือ เฉาฮื้อ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ctenopharyngodon idellus* ปลาซ่งหรือซ่งฮื้อ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aristichthys nobilis* และปลาลิ่นฮื้อ มีลักษณะ ลำตัวแบน เกล็ดเล็กละเอียด สีเงิน ท้องเป็นสันตั้งแต่คอหอยจรดครีบก้น นิสัยกระโดดเก่ง หากินตามระดับกลางน้ำ ปลาชนิดนี้เป็นปลาที่รู้จักกันแพร่หลายเพราะเนื้อมีรสชาติดี เลี้ยงง่าย มีอัตราการเจริญเติบโตสูงในระยะเวลาอันสั้น โดยที่ปลาช[illegible]าต่างประเทศทุกๆปี ดังนั้น กรม[illegible]นิดนี้ด้วยการผสมเทียม ประสบค[illegible]เละ วนิช

ต่อมา มนู[illegible]ปลาเพศเมียพบว่า ปลาเพศผู้เริ่[illegible]เชื้อได้ แต่ว่าปริมาณน้ำเชื้อมีเพีย[illegible]เมื่ออายุครบ 21 เดือน จะมีปริมา[illegible]จะมีสีขาวใสและมีปริมาณน้อย [illegible]าก เหมาะแก่การผสมกับไข่ ส่วน[illegible]าณ 47.37% และเมื่อปลาอายุคร[illegible]แก่จะเพิ่มขึ้นเป็น 100 %

และยังมีราย[illegible]ไข่ปลาที่จัดอยู่ในประเภท Semi – buoyant คือ มีลักษณะครึ่งจมครึ่งลอย เชื้อรตอกจากท้องแม่ปลาใหม่ๆ จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร แต่เมื่อไข่ถูกน้ำส่วนเปลือกไข่จะมีการพองตัวออก มีลักษณะคล้ายวุ้นห่อหุ้มอยู่ ไข่ที่ได้รับการผสมแล้ว จะมีวิวัฒนาการตามลำดับขั้น และจะฟักออกเป็นตัวประมาณ 14 ชั่วโมง (อุณหภูมิของน้ำประมาณ 28 องศา) ลูกปลาที่ฟักออกมาใหม่จะมีความยาวประมาณ 4 มิลลิเมตร และเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ ถุงอาหารจะยุบหมดในระหว่างวันที่ 2-3 โดยที่ลูกปลาจะมีอวัยวะครบทุกส่วนคล้ายปลาเต็มวัย เมื่อมีอายุได้ 13 วัน

มีรายงานเพิ่มเติมจาก ชนินทร และ ภาณุ (2512) ได้ทดลองใช้ต่อมใต้สมองสดฉีดเร่งให้แม่ปลามีไข่แก่ และผสมกับน้ำเชื้อตัวผู้ได้เป็นอย่างดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อสุจิและน้ำเชื้อปลา

อสุจิของปลาต่างจากสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ ตรงที่มีส่วนของ acrosome ทั้งนี้เพราะไข่ปลามี micropyle ซึ่งเป็นทางผ่านของอสุจิอยู่แล้วตัวอสุจิของปลาแต่ละชนิดจะมีรูปร่างลักษณะที่แตกต่างกัน แต่ทุกชนิดจะมีส่วนประกอบที่สำคัญ 3 ส่วน คือ 1) ส่วนหัว (head) เป็นที่ อยู่ของ nucleus และเป็นส่วนที่สำคัญที่สุด จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า ส่วนหัวของอสุจิปลาตะเพียนขาว ปลาดุก ปลาทอง มีลักษณะกลม ส่วนของปลาไนเป็นรูปไข่ 2) ส่วนลำตัว (mid piece) เป็นส่วนที่อยู่ถัดจากส่วนหัว ประกอบด้วยส่วนของ microtubule ซึ่งเป็นแกนกลางของส่วนหาง ล้อมรอบด้วย cytoplasm ภายในมี mitocrondria และ centriole 3) ส่วนหาง (flagellum) ประกอบด้วย microtubule ที่เรียงกันเป็นวงรอบแกนกลาง ซึ่งทำหน้าที่ให้อสุจิเคลื่อนที่ได้ (อุทัยรัตน์, 2535 ; Linhart et al., 1991)

จากการศึ ตะเพียน และ
คน มีเส้นผ่าศูนย์ก ยาวเฉลี่ย 33,
38 และ 60 µm ต 2-3 เท่า และ
อสุจิของปลาไนมีข เษาจากกล้อง
จุลทรรศน์อิเล็กตรอ EM) และแบบ
transmission (tr ของปลาบึก มี
ความยาวประมาณ osome ส่วน
ลำตัวมีขนาด 1x0.2 และส่วนหาง
ยาว 30 µm มี m นว่า อสุจิของ
ปลา Indian major ล้ว ซึ่งอสุจิถูก
เก็บรักษานาน 8 ชั่ว (SEM) อสุจิ
ของปลามีความยาว

น้ำเชื้อปลา (milt) ทีอยู่ในอัณฑะ หรือทีรีดออกมาสดๆ จะมีสีขาวคล้ายน้านม แต่จะข้นเหนียวและมีกลิ่นคาว ปริมาณของน้ำเชื้อ และความหนาแน่นของน้ำเชื้อจะแตกต่างกันตามชนิด ขนาด อายุ ความสมบูรณ์เพศ ฤดูกาล และสิ่งแวดล้อม (Guest et al., 1976; อุทัยรัตน์, 2525) เช่น การศึกษาของ Guest et al. (1976) ในปลา channel catfish (*Ictalurus punctatus*) ช่วงเดือน พฤษภาคม- ตุลาคม พบว่ามีค่าดัชนีความสัมพันธ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonado somatic index , GSI) เฉลี่ย 0.25% และมีความหนาแน่นของเซลล์อสุจิเฉลี่ย 7.1x 10^9 ตัว/น้ำหนักอัณฑะ (กรัม) หรือจากการศึกษาของ Sequet et al. (1993) ในปลา terbot (*Scophthalmus maximus*) พบว่า ตามธรรมชาติช่วงฤดูกาลผสมพันธุ์วางไข่ ปลาน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิโลกรัม อายุประมาณ 1 ปี มีปริมาณน้ำเชื้อประมาณ 1.6 มิลลิลิตร มีความหนาแน่นของเซลล์อสุจิ $38.3x10^9$ ตัว/มิลลิลิตร

การเก็บรวบรวมน้ำเชื้อปลาสามารถทำได้ 3 วิธีคือ 1) รีดโดยตรงจากตัวปลา โดยกดเบาๆตรงส่วนท้องของปลาเพศผู้ก็จะมีน้ำเชื้อสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนมไหลออกมา 2) ใช้เข็มฉีดยาดูดจากช่องเปิดน้ำเชื้อ 3) ผ่าท้องปลาพร้อมกับนำอัณฑะไปเปิดเอาน้ำเชื้อ วิธีนี้นิยมใช้กับปลาที่มีน้ำเชื้อน้อย เช่น ปลาดุก (อุทัยรัตน์, 2525)

การเคลื่อนไหวของอสุจิปลา

การเคลื่อนไหวของอสุจิเกิดจากการทำงานของส่วน flagellum โดยอาศัย adenosine triphosphate (ATP) ถ้า ATP สูง ก็จะสามารถเคลื่อนไหวได้แรงและเร็วกว่าที่ ATP ต่ำ (Amelar et al., 1980) และ ลา carp เพศผู้ ที่สมบูรณ์ โดยมีกา รปนเปื้อนจาก urine จะมีความจุ , วเริ่มต้นในการ เคลื่อนที่ ของอสุจิ ประมาณ 30-50 Hz ซึ่งจะมีคว นาน 1 ชั่วโมง ความจุ ATP ของอ นการเคลื่อนที่ ของอสุจิจะลดลงเห อสุจิ ประมาณ 10-20 Hz

ในสภาวะป จะเคลื่อนไหว เมื่อได้รับการกระตุ้น ว่าของเหลวใน น้ำเชื้อ (seminal Mg^{2+}และ Cl^{-1} เป็นต้น ซึ่งส่วนประ หรือกลุ่มของ ปลา (Sequet et al., 1993; Billard et al., 1995) ดังที Morisawa (1983b) พบว่าอสุจิของปลาน้ำจืดพวก cyprinidae (ปลาทอง, ปลาไน, crucian carp และ dace) ไม่มีการเคลื่อนไหวเมื่อเจือจางในสารละลาย NaCl, KCl, Manitol หรือ glucose ที่มีค่าออสโมลาลิตีสมดุล (iso-osmolar) กับ seminal plasma (~300 mOsm/kg) แต่อสุจิจะมีการเคลื่อนไหวเมื่อสารละลายนั้นมีค่าออสโมลาลิตีต่ำกว่า seminal plasma ทำนองเดียวกันกับที่ Billard et al.(1995) ได้ทำการศึกษาในปลาไน พบว่า อสุจิจะไม่เคลื่อนไหวเมื่ออยู่ใน genital tract ของเพศผู้ แต่จะเริ่มเคลื่อนไหวเมื่อถูกปล่อยลงสู่น้ำจืด ซึ่ง osmotic pressure ลดลง ในการเจือจางด้วยน้ำจืด โครงสร้างของ flagellum จะมีคุณสมบัติเปลี่ยนไปอย่างรวดเร็ว และการเคลื่อนไหวจะหยุดลงภายใน 30 วินาที ในขณะที่เจือจางในสารละลาย 50 mM NaCl ซึ่งมี osmotic เพียงพอต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มเคลื่อนไหวของอสุจิ โครงสร้างของ flagellum ยังมีคุณสมบัติคงเดิม และการเคลื่อนไหวจะค่อยๆ ลดลงภายใน 1 นาที ซึ่งสอดคล้องกับที่ เมฆ (2525) เรียบเรียงไว้ว่า อสุจิจะอยู่นิ่งไม่เคลื่อนไหวเมื่ออยู่ในอัณฑะ แต่จะเคลื่อนไหวเมื่อถูกน้ำ ระยะเวลาการเคลื่อนไหวของอสุจิจะค่อนข้างสั้น ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิน้ำ อสุจิของปลาเขตร้อนจะเคลื่อนไหวคล่องแคล่วโดยใช้ flagellum ได้เป็นเวลานานเพียงครึ่งนาทีถึงหนึ่งนาที อสุจิจะมีขนาดเล็กมาก น้ำเชื้อ (milt) 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร จะมีอสุจิประมาณ 10,000-20,000 ล้านตัว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และจากการศึกษาของ Emri et al. (1998) ที่ทำการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ ion ของอสุจิ ในปลาไน พบว่า ปลาในเขตหนาวจะมีการปรับตัวโดยมี pH (7.4±0.1) ภายใน intracellular ที่สูงกว่า ตัวอย่างของปลาในเขตอบอุ่น pH ของ seminal plasma ของปลาในเขตหนาว (8.6±0.2) จะมีค่าที่สูงกว่าปลาในเขตอบอุ่น (8.3±0.1) และความเข้มข้นข

ุ่น

วิธีการเก็บรักษาน้

วิธีการเก็บ

ในสัตว์ที่เลี้ยง

ลูกด้วยนมคือ

1. การเก็บ

นตู้เย็นหรือถัง

น้ำแข็งที่อุณหภูมิสูง

ามารถเก็บได้

ทั้งสภาพเข้มข้นหรื

เชื้อปลาชนิด

ต่างๆ ที่มีผู้ศึกษาไว้

ะ (2526) ใน

ปลาตะเพียนขาว (*F*

งศาเซลเซียส

ใช้น้ำยา 5 สูตรได้แ

mal medium

สำหรับเลี้ยงยีสต์และ

่อ 3 หลังจาก

เก็บรักษานาน 96 ชั่งโมงพบว่า นำยาทุกสูตรให้เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต อัตราการปฏิสนธิ และอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ระหว่าง 20–68, 1.6–23.7 และ 0-0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ น้ำยาที่ให้เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจอมีชีวิตสูงสุด (68เปอร์เซ็นต์) ได้แก่ sucrose- $KHPO_3$ และขณะเดียวกันก็ให้อัตราการปฏิสนธิสูงสุด (23 เปอร์เซ็นต์ด้วย แต่อัตราการฟักออกเป็นตัวมีค่าเป็นศูนย์ (0 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งในปีเดียวกัน อุทัยรัตน์ (2526) ก็ทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวในอุณหภูมิตู้เย็นเช่นเดียวกัน โดยเก็บในสภาพเข้มข้น และเจือจางด้วยน้ำยา Ringer's solution และ Rinsing solution อัตราส่วนน้ำเชื้อต่อน้ำเย็น 5 ต่อ 3 เก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นเวลานาน 24 และ72 ชั่วโมง จึงนำผลมาผสมกับไข่สด พบว่าน้ำเชื้อที่เก็บรักษาในสภาพเข้มข้นมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ 73.14 และ 18.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเวลาการเก็บรักษา ส่วนน้ำเชื้อที่เก็บรักษาใน Ringer's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

solution มีอัตราการปฏิสนธิเป็น 80.64 และ 38.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเวลาการเก็บรักษาซึ่งสูงกว่า Rinsing solution ที่ให้อัตราการปฏิสนธิเป็น 60.17 และ 3.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเวลาการเก็บรักษา ในปีต่อมา นลินี (2527) ก็ทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวเช่นเดียวกัน โดยศึกษาในน้ำยา 16 สูตร อัตราส่วนน้ำเชื้อต่อน้ำยาเป็น 1 ต่อ 3 เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส นาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ผลจากการศึกษาพบว่า น้ำยาสูตรที่ 16 ซึ่งประกอบด้วย $KHPO_3$ 125 mM , sucrose 250 mM และ reduced glutathione 9.75 mM ให้ผลดีกว่าน้ำยาสูตรอื่นๆ คือ มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิเคลื่อนไหวเป็น 76 , 71 และ 67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับระยะเวลาของการเก็บรักษา และในน้ำยาในสูตรเดียวกันนี้ (สูตรที่ 16) ทัศนีย์ และคณะ (2529) ก็นำมาใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเทพา (*Pangasius sanithwongsei*) ในอุณหภูมิตู้เย็น 0-5 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมาผสมกับไข่สด ให้อัตราการฟักเป็นตัวถึง 92 เปอร์เซ็นต์

Hulata an ...cio) ในสภาพ
เข้มข้นและเจือจาง ...ส่วนน้ำเชื้อต่อ
น้ำยาเป็น 5 ต่อ3 เ... ...งนำมาผสมกับ
ไข่สดพบว่าน้ำเชื้อ... ...การผสมติดไม่
แตกต่างจากน้ำเชื้อ... ...สภาพเข้มข้น
เช่นเดียวกัน โดยศึ... *arpio*) , ปลา
ตะเพียนขาว (*Pun*... ...บรรจุในหลอด
ฉีดพลาสติกเก็บรัก... ...ว่า น้ำเชื้อปลา
ยี่สกเทศหลังจากเก็... ...ร์เซ็นต์ ปลาไน
หลังจากการเก็บรัก... ...00 เปอร์เซ็นต์
แต่เมื่อเก็บรักษานา... ...เก็บนาน 5 ½
ชั่วโมง มีอสุจิเคลื่อน... ...และ 80 นาที

มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเก็บรักษานาน 18 ชั่วโมง และ 3-5 วัน มีอสุจิเคลื่อนไหว 10 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน Saad et al.(1988) ทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อในปลาไนในระยะสั้นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า อัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิและอัตราการผสมกับไข่จะสูงในช่วงวันที่ 1 และ 2 และจะลดลงเรื่อยๆ จนเป็น 0 หลังจากเก็บรักษา 6-8 วัน แต่เมื่อเติมยาปฏิชีวนะ (50µg/ml streptomycin + 50 IU bipinicilin) ในน้ำยา พบว่า ในการเก็บรักษา 8 วัน อสุจิยังมีการเคลื่อนไหว 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษานาน 16 วันก็ยังคง มีอัตราการผสมกับไข่ถึง 20 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Linhart et al. (2005) ได้ทำการศึกษาในปลา European catfish (*Sllirus glanis*) โดยเจือจางในสูตรน้ำยา immobilizing solution เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลานาน 5 ชั่วโมง พบว่าอัตราการฟักไข่สูงสุดอยู่ในช่วง 82-86 เปอร์เซ็นต์

2) การเก็บรักษาแบบระยะยาว (Cryopreservation) เป็นการเก็บในถังไนโตรเจนเหลว อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส ซึ่งการเก็บรักษาเชื้อด้วยวิธีนี้ ถ้ามีการเลือกใช้สูตรน้ำยาที่ใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อ ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์ (สารที่ช่วยป้องกันความเสียหายของเซลล์ในกระบวนการแช่แข็ง) ระยะ equilibration time (ช่วงเวลาหลังจากผสมน้ำเชื้อกับสารไครโอโพรเทคแทนท์ ก่อนทำการแช่แข็ง)และอัตราการลดอุณหภูมิก่อนการแช่แข็ง รวมทั้งระดับไนโตรเจนเหลวในถังที่เก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็ง ถ้ามีการปฏิบัติและการเลือกใช้อย่างถูกต้องเหมาะสมกับน้ำเชื้ [illegible] สิบปี เมื่อใช้ก็นำออกมาละลาย [illegible] ผสมเทียมที่มีประสิทธิภาพสูงไม่ [illegible] ศึกษาทดลองวิธีการเก็บแช่แข็ง [illegible] นาวิธีการของ Mounib et al. (19[illegible] *dus morhua*) โดยใช้อัตราส่วนน้ำ [illegible] มาผสมกับไข่สดได้อัตราการปฏิ [illegible] ละไข่สดซึ่งได้ 79 เปอร์เซ็นต์ Ott [illegible] nook salmon (*Oncomynchus ts* [illegible] นโตรเจนเหลว อุณหภูมิ -196 องศ [illegible] O (dimethyl salfoxide) เข้มข้น 8 [illegible] าละลายผสมกับไข่สดให้อัตราก [illegible] นาสูตรน้ำยาในการเก็บรักษาแบบแช่แข็งในปลา salmon และปลา cod (*Salmon salar* และ*Gadus morhua)* ซึ่งน้ำยาดังกล่าวประกอบด้วย $KHPO_3$, sucrose และ reduced glutathione และใช้ 12.5 เปอร์เซ็นต์ DMSO เป็นสารไครโอโพรเทคแทนท์ สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อได้ดี คือมีอัตราปฏิสนธิเป็น 80 และ 59 เปอร์เซ็นต์ ในปลา salmon และปลา cod ตามลำดับ ซึ่ง นลินี (2547) ได้นำสูตรน้ำยาของ Mounib (1978) มาใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวในตู้เย็น พบว่าน้ำยาที่ประกอบด้วย $KHPO_3$ 125 mM, sucrose 250 mM และ reduced glutathione 9.75 mM ให้ผลดีกว่าน้ำยาสูตรอื่น จึงได้นำมาใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวแบบแช่แข็ง โดยใช้ DMSO ที่ระดับความเข้มข้น 8 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการแช่แข็งนาน 2, 3 และ 18 วัน นำน้ำเชื้อออกมาละลายที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส พบว่ามีเปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนไหว 35.47±4.03,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28.33±2.64 และ 22.19±1.61 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการปฏิสนธิ 5.5±0.54, 14.6±1.31 และ 1.41±1.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเวลาที่เก็บรักษา จากการศึกษาเบื้องต้นของ Steyn et al. (1985) ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus*) แบบแช่แข็งในสารละลายต่างๆ ได้ผลเป็นที่น่าพอใจคือ น้ำเชื้อที่เก็บในสารละลาย 50% glucose มีไครโอโพรเทคแทนท์เป็น 5% glycerol ระยะ equilibration time 60 นาที อัตราการลดอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสต่อนาที หลังจากการเก็บรักษานาน 1, 30 และ 60 วัน ภายหลังที่ทำการละลายที่อุณหภูมิน้ำ 25 องศาเซลเซียส อสุจิมีการเคลื่อนไหว 40, 20 และ20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเวลาที่ทำการเก็บรักษา สองปีต่อมา Stey and Van Vuren (1987) ได้ทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกรัสเซียแบบแช่แข็งอีก โดยใช้สารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่ให้ผลดีที่สุด ที่ได้จากการทดลองในปี ค.ศ. 1985 ซึ่งผลที่ได้จากการเก็บรักษาน้ำเชื้อนาน 14 วันพบว่า น้ำเชื้อที่เก็บในสารละลายที่มีส่วนผสมของ 11% glycerol ระยะ equilibratio ภายหลังการ ละลายที่อุณหภูมิ 2 ัวสูงสุด 51.2 เปอร์เซ็นต์

Mongkonp ngasianodon *gigas* Chevey) ละ reduced glutathione (1.25, ต่อน้ำยาเป็น 1 ต่อ 3 และใช้ 8% ุณหภูมิ -120 องศาเซลเซียส เป็น ณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส นาน ซียส นาน 20 นาที นำไปทดสอบค ายแม่น้ำโขง (*Pangasius chonc* บรักษาให้ผล การทดลองเป็น 67. ากการศึกษา ของ Linhart et al.,(1993) ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา European catfish (*Silurus glanis* L.) ในสารละลายที่ประกอบด้วย NaCl 200 mM, Tris 30 mM, pH 7 ใช้ไครโอโพรเทคแทนท์เป็น 12 และ 15% glycerol ทำการลดอุณหภูมิของน้ำเชื้อซึ่งเก็บในรูปของ pellets เหนือไอไนโตรเจนเหลว (-80 ถึง -85) นาน 10นาที ก่อนจะเก็บแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว (-196 องศาเซลเซียส) และนำออกมาละลายที่อุณหภูมิน้ำ 36 องศาเซลเซียส นาน 20 วินาที ให้อัตราการผสมกับไข่สดเฉลี่ย 45.2 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการฟักเป็นตัว 70.6 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบความสมบูรณ์ของลูกปลาที่ได้จากน้ำเชื้อที่เก็บแช่แข็งไม่มีความแตกต่างจากน้ำเชื้อสด

ต่อมา Linhart et al. (2000) ได้ทำการศึกษาในปลาไน (*Cryprinus carpio*) โดยเจือจางด้วยน้ำยา Kurokura ที่ประกอบด้วย 128.4 mM NaCl, 2.7 mMKCl, 1.4 mM $CaCl_2$ และ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$NaHCO_3$ และมีการเพิ่ม DMSO ลงไป นำไปแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงลดอุณหภูมิลงถึง -9 องศาเซลเซียส ในการลด 4 องศาเซลเซียสต่อนาที ต่อด้วยการลด -9 องศาเซลเซียสถึง -80 องศาเซลเซียส ในอัตราการลด 11 องศาเซลเซียสต่อนาที และอยู่ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นาน 6 นาที แล้วจึงนำไปแช่ในไนโตรเจนเหลว (-196 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำไปละลายน้ำที่อุณหภูมิน้ำ 35 องศาเซลเซียส นาน 110 วินาที พบว่า อัตราการผสมติดระหว่างน้ำเชื้อสดกับน้ำเชื้อที่แช่แข็ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (68±11 และ 56±10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ส่วนอัตราการฟักตัวไม่มีความแตกต่างกันระหว่างน้ำเชื้อสดกับน้ำเชื้อที่แช่แข็ง (52.18±18 และ 52±9 ตามลำดับ)

จากการศึกษาของ Warnacke and Hans (2003) ที่ทำการทดลองหาปริมาณความจุของ dimethyl – acetamine (DMA) ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาไน (*Cryprinus carpio*) แบบแช่แข็ง ซึ่งประ <2)/200 mM sucrose/15% DM, ยใช้อัตราส่วน น้ำเชื้อต่อน้ำยาเป็น บกลุ่มควบคุม (น้ำเชื้อสด) และอ) (-196 องศา เซลเซียส) นาน 349

Velasco-S mu (*Brycon amazonicus*) ในสา างของน้ำเชื้อ ต่อสารละลายเป็น 1 งศาเซลเซียส และ 80 องศาเซลเซี งศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การผสม ัยสำคัญทาง สถิติ

Routray et r carp rohu (*Labeo rohita*) โดยรวบรวมจากปลาที่ตายแล้ว เก็บรักษาน้ำเชื้อที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 31, 0, -10 และ -30 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการละลายที่อุณหภูมิน้ำ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 วินาที ซึ่งพบว่า อสุจิของปลาปลา rohu จะมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 0 และ -10 องศาเซลเซียสและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นการเก็บรักษาที่ดีที่สุด ที่ส่งผลต่ออัตราการรอดของลูกปลาถึง 30 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา

การเก็บน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็งถือได้ว่าเป็นเทคนิคหนึ่งของการเพาะเลี้ยง ที่ถูกพัฒนาขึ้นมาจนปัจจุบัน มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในวงการเพาะเลี้ยงปลา ซึ่งจะกล่าวสรุปไว้ดังนี้

1. ช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงพ่อพันธุ์ เพราะสามารถที่จะลดจำนวนพ่อพันธุ์ปลาให้น้อยลง ทำให้สิ้นเปลืองค่าเลี้ยงดูพ่อแม่พันธุ์น้อยลงและประหยัดเนื้อที่บ่อปลา
2. เพื่อใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์ปลา ทั้งการผสมข้ามชนิดกัน ตลอดจนการผสมพันธุ์ข้ามสกุล เพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและต้านทานโรค หรือลูกผสมชนิดใหม่ที่มีประโยชน์ในทางเศรษฐกิจ
3. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง จำเป็นสำหรับการผสมเทียมปลาบางชนิดที่เป็นกระเทยแบบที่เป็นเพศเมียในช่วงระนะแรกของชีวิต (protogynous hermaphrodite) เช่น ป (*Monopterus albus*) ระยะแรกของชีวิต (ร รัตน์, 2531)ซึ่งการผส ตัวผู้เก็บรักษาแบบแช่ ามารถทำการผสมเที นทุกๆฤดูผสมพันธุ์
4. การเก็บ ยาก หรือปลาที่ใกล้จ ร้อมกัน แม้ว่าในบาง อปลาหรือแม่เอาไว้ การเก็บรักษาน้ำเชื้อ ทียมได้โดยไม่ทำให้ปลาบอบช้ำ
5. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็งจะอำนวยประโยชน์ ในการศึกษาวิจัยที่เป็นโครงการร่วมมือระหว่างชาติ เพราะการขนส่งน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง ทำได้ง่าย และสะดวกกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
2. hemocytometer
3. dilution pipette
4. slide และ cover glass
5. เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง
6. ขวดเก็บสารเจือจางน้ำเชื้อ
7. micropipette ขนาด 1 และ 10 ml
8. หลอดเก็บ
9. ตู้แช่เย็น
10. สีย้อม Eos
11. ตะเกียงแอ
12. อุปกรณ์ที่ใ
    - เค
    - สา
13. อุปกรณ์ที่ใ

สัตว์ที่ใช้ในการทดล

ปลาลิ่นฮื้อ น้ำหนัก 1.5 กิโลกรัมขึ้นไป จาก

วิธีการ

การวางแผนการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาลิ่นฮื้อ (*Hypophthalmichthys molitrix*) โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized Design (CRD) ทำการเปรียบเทียบสารเจือจางน้ำเชื้อทั้ง 4 สูตร สูตรละ 3 ซ้ำ ในแต่ละช่วงระยะเวลา (0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

การเตรียมสารเจือจางน้ำเชื้อ

- Extender-C ประกอบด้วย 128 mM NaCl, 2.6 mM KCl, 1.3 mM $CaCl_2$, 2.3 mM $NaHCO_3$ (NaCl 7.48 g, KCl 0.19 g , $CaCl_2$ 0.14 g, $NaHCO_3$ 0.12 g) ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

- Immobilizing medium (IM) ประกอบด้วย 200 mM KCl และ 30 mM Tris- HCl (KCl 14.91 g, Tris- HCl 4.72 g) ละลายในน้ำกลั่น และปรับ pH 8

-Saline solution ประกอบด้วย 0.85 % NaCl

- Kurokura-1 ประกอบด้วย 128.4 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.4 mM $CaCl_2$, 2.4 mM $NaHCO_3$ (NaCl 7.48 g, KCl 0.20 g , $CaCl_2$ 0.15 g, $NaHCO_3$ 0.12 g) ละลายในน้ำกลั่น1 ลิต

การเตรียมน้ำเ

ทำการเก็บ *ix)* เพศผู้ที่มี
ความสมบูรณ์ ีโลกรัมขึ้นไป
จำนวน 5 ตัวโด ้องให้ตัวปลา
แห้ง โดยเฉพาะ ัวปลาหยดลง
ปนกับน้ำเชื้อที่ ห้ตัวอสุจิส่วน
หนึ่งมีการเคลื่อ ใช้มือบีบหรือ
กดรีดส่วนท้องข ษณะน้ำเชื้อที่
ดีจะต้องมีสีขาว จากนั้น จึงใช้
หลอดแก้วหรือ เนและบันทึก
ปริมาตรน้ำเชื้อที่รีดได้ สำหรับภาชนะที่จะใช้ต้องมีความสะอาดและแห้งสนิท

ธนาคารสถานพันธุกรรมสัตว์น้ำแห่งชาติ อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

1. การเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ (sperm motility)

นำน้ำเชื้อสดที่ได้จากการรีดเก็บแล้ว มาทำการตรวจสอบการเคลื่อนไหวของ sperm โดยการหยดน้ำเชื้อลงบนสไลด์ แล้วหยดน้ำกลั่นบริเวณข้างๆ น้ำเชื้อ จากนั้นจึงเอา cover glass ปิด แล้วส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยพยายามหาจุดที่น้ำมาเจือกับน้ำเชื้อ ซึ่งบริเวณดังกล่าวจะมีการเคลื่อนไหวมาก ในการตรวจสอบการเคลื่อนไหวของ sperm จะต้องคำนึงถึงว่าเมื่อใช้น้ำกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนไหวแล้วต้องรีบตรวจและประเมินผลในทันที เนื่องจากเซลล์อสุจิจะคงการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคลื่อนไหวได้เพียงระยะเวลาสั้นๆ เท่านั้น การประเมินการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิแบบเป็นกลุ่ม อาจใช้วิธีการของ Mounib (1978) วิธีการของ Billard et al. (1989) อ้างตาม Suquet et al. (1992) โดยวิธีแรกจะประเมินการเคลื่อนไหวของอสุจิออกเป็น 10 ระดับ โดยระดับที่ 1 หมายถึง อสุจิที่อ่อนแอมาก ส่วนระดับที่ 10 หมายถึงเซลล์อสุจิที่เคลื่อนไหวปราดเปรียวที่สุด สำหรับวิธีที่ 2 จะประเมินการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิเป็น 4 ระดับ คือ ระดับ 0 หมายถึง เซลล์อสุจิที่ไม่มีการเคลื่อนไหวเลย ส่วนระดับที่ 1,2,3 และ4 หมายถึงเซลล์อสุจิมีการเคลื่อนไหวประมาณ 1-25, 25-50, 50-75 และ 75-100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

2. ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ (sperm concentration)

ในการตรวจหาความเข้มข้นของเซลล์อสุจินั้น จะต้องมีการใช้อุปกรณ์ที่มีความจำเพาะ ได้แก่ hemocytometer ที่ประกอบด้วยสไลด์ที่มีช่องนับ (counting chamber) 2 ช่อง และไป

เปตเจือจางน้ำเชื้อ (...ัวถูกดัดแปลง

มาใช้ตรวจนับเซลล์

สำหรับไปเ... ...อจางและการ

เตรียมน้ำเชื้อเพื่อตร...

- กลับหล...
- ดูดน้ำเ...
- ดูดไปเ... ...ลายไปเปตให้ สะอาด
- ดูดสาร...
- ใช้นิ้วหั... ...เพื่อให้น้ำเชื้อ ผสมกับ
- ปล่อยส...
- วางแผ่น cover glass เหนือช่องนับสไลด์
- หยดน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วที่ขอบของแผ่น cover glass เพื่อให้น้ำเชื้อเข้าไปได้เต็มพื้นที่ใต้แผ่น
- ปล่อยน้ำเชื้อที่เจือจางไว้ซักครู่ เพื่อให้เซลล์อสุจิอยู่คงที่แล้วจึงเริ่มตรวจนับจำนวนเซลล์อสุจิ

วิธีการคำนวณหาความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ คือ จะตรวจนับจำนวนเซลล์อสุจิจากสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่ 5 ช่อง ซึ่งมีปริมาตร 1/50 ลูกบาศก์มิลลิลิตร และสมมติให้มีจำนวนเซลล์อสุจิ N เซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตรน้ำเชื้อ 1/50 ลูกบาศก์มิลลิลิตรมีสุจิ N เซลล์
ปริมาตรน้ำเชื้อ 1 ลูกบาศก์มิลลิลิตรมีสุจิ 50N เซลล์
ปริมาตรน้ำเชื้อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรมีสุจิ 50,000 N เซลล์
ถ้าเจือจางน้ำเชื้อในอัตราส่วน 1 : 200

ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ = 50,000N x 200
= 10,000,000

หรือเขียนเป็นสูตรดังนี้

ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ = จำนวนเซลล์อสุจิจากสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่ 5 ช่อง

จาง

3. การปร

ในการตรว ์ คือ สี Eosin-Nigrosin โดยจะหย บนสีย้อมและผสมให้เข้ากัน ใช้ส ตรวจดูสไลด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในเปอร์เซ็นต์

การแช่เย็นน้ำ

น้ำเชื้อ (milt ามาพูรวมกัน จากนั้นจึงนำน้ำ ยใช้อัตราส่วนของน้ำเชื้อปลา ให้น้ำเชื้อกับสารเจือจางน้ำเชื้อผสมเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วค่อยนำ micropipette ดูดน้ำเชื้อที่ผสมแล้วดังกล่าว ปริมาณ 0.3 ซีซี ลงในหลอดเก็บน้ำเชื้อ ปิดฝาให้พอแน่น นำไปเก็บที่ตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศา น้ำเชื้อที่ถูกเจือจางแล้ว จะถูกนำมาประเมินเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิ, เปอร์เซ็นต์อสุจิที่ยังมีชีวิต และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หัวโตหรือหางงอ) ในช่วงระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมง การนำน้ำเชื้อที่แช่เย็นออกมาตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำเชื้อดังที่กล่าวมา จะต้องนำมาละลายที่อุณหภูมิน้ำ 37 °C เป็นเวลานาน 2 นาที ก่อนที่จะนำมาตรวจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบันทึกข้อมูล

1. ทำการจดบันทึก น้ำหนัก ความยาว ของปลาลิ่นฮื้อ รวมทั้งปริมาตรของน้ำเชื้อที่รีดได้ในแต่ละตัว
2. บันทึก ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ/ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ได้จากการรีดน้ำเชื้อสด
3. ทดสอบการเคลื่อนไหวของอสุจิ, อสุจิที่ยังมีชีวิต และอสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หัวโตหรือหางงอ) ของน้ำเชื้อสด และน้ำเชื้อที่ทำการเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลการเคลื่อนไหวของอสุจิ, อสุจิที่ยังมีชีวิต และอสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หัวโตหรือหางงอ) ที่ทำการเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 nce) โดยการวางแผนแบบ CRD จากต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสูตรเจื โปรแกรมการวิเคราะห์ SPSS ver

สถานที่ทำการทด

ภาควิชาวิท โลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารล ง ของคุณ น้ำเพชร น้อยเกิด

ระยะเวลาในการท

11 มีนาคม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะน้ำเชื้อและความเข้มข้นของน้ำเชื้อปลาลิ่นฮื้อ

จากการศึกษาน้ำเชื้อสดที่ทำการรีดจากปลาลิ่นฮื้อเพศผู้ อายุประมาณ 7-8 เดือน พบว่า ลักษณะของน้ำเชื้อจะมีสีขาวขุ่น แต่มีปริมาณน้อย (ต่ำกว่า 0.5 ซีซี) เนื่องจากเป็นช่วงที่เพิ่งจะเริ่มเข้าสู่ช่วงฤดูกาลผสมพันธุ์ ของปลา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Guest et al.(1976); อุทัย รัตน์, (2525) ที่กล่าวว่า ปริมาณของน้ำเชื้อ และความหนาแน่นของเซลล์อสุจิ จะแตกต่างกันตามชนิด ขนาด ฤดูกาล อายุ ความสมบูรณ์เพศ และสิ่งแวดล้อม ยังมีรายงานเพิ่มเติมจาก มนู (2511) ได้ทำการศึกษาความสมบูรณ์เพศของปลาลิ่นฮื้อเพศผู้ พบว่า ปลาเพศผู้เริ่มเข้าขั้นตัวเต็มวัยเมื่ออายุครบ 13 เดือน สามารถที่จะรีดน้ำเชื้อได้ แต่ว่าปริมาณน้ำเชื้อมีเพียง 46.15% แล้วจะเพิ่มขึ้นเป็น 60.87 ำเชื้อถึง 100% ลักษณะของน้ำเชื้อ ปลามีอายุ 21 เดือน น้ำเชื้อจะมีสี ทดลอง พบว่า น้ำเชื้อสดมีปริมาณ

2. การทดสอบประสิ

จากการทด ำเชื้อไว้ได้นาน ที่สุด คือ 120 ชั่วโม ง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อ IM (Imm ำเชื้อไว้ได้นาน เพียง 72 ชั่วโมง

2.1 การเคลื่

จากการศึก าลิ่นฮื้อเพศผู้ เมื่อทำการกระตุ้นด้วยน้ำกลั่น พบว่า มีการเคลื่อนไหวเฉลี่ย 90 % แต่เมื่อทำการเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ ทั้ง 4 สูตร พบว่า เปอร์เซ็นต์ การเคลื่อนไหวของอสุจิในสารเจือจางน้ำเชื้อทั้ง 4 สูตร คือ extender-C, IM (Immobilizing Medium), 0.85% NaCl และKurokura-1 มีค่าเฉลี่ย 80±10.14, 83.33±9.53, 63.33±7.86, และ 73.33±8.20 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิสูงสุดในสารเจือจางน้ำเชื้อ IM (Immobilizing Medium) แต่ในการทดลองของ Poupard et al., (1998) ที่ทำการศึกษาการเคลื่อนไหวของอสุจิของปลา carp เมื่อถูกปนเปื้อนจาก urine ซึ่งใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ IM (Immobilizing Medium) พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิถึง 90±2% ที่ทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 0 ชั่วโมง หลังจากนั้นเปอร์เซ็นต์ การเคลื่อนไหวของอสุจิจะค่อยๆ ลดลง และจากการทดลอง เมื่อทำการเก็บรักษานาน 6 ชั่วโมง พบว่า สารเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

น้ำเชื้อ extender-C ให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ภายหลังจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อนาน 6 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิในสารเจือจางน้ำเชื้อ extender-C มีค่าสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และหยุดการเคลื่อนไหวเมื่อเข้าสู่ 144 ชั่วโมง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อ Kurokura-1 หยุดการเคลื่อนไหวที่ 120 ชั่วโมง สารเจือจางน้ำเชื้อ IM (Immobilizing Medium) และ0.85% NaCl หยุดการเคลื่อนไหวที่ 96 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ พลชาติ และคณะ (2547) ที่ทำการทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อปลานิลโดยวิธีการแช่เย็น ด้วยการเก็บรักษาน้ำเชื้อใน 0.85% NaCl เป็นเวลานาน 144 ชั่วโมง พบว่า มีการเคลื่อนไหวของอสุจิสูงสุดถึง 47.00±27.70% และการทดลองของ Linhart et al., (2000) ที่ทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาไน (*Cyprinus carpio*) โดยการใช้สารเจือจ จลื่อนไหวของอสุจิเพียง 64±14%

ตารางที่ 1 แสดงเ 1 สูตร ในเก็บรักษาที่

ช่วงระยะเวลา (ชั่วโมง)				Kurokura-1
0				73.33±8.20[a]
6				43.33±8.20[a]
12				33.33±8.20[a]
24	40±10.14[b]	16.67±9.53[a]	13.33±7.86[a]	20±8.20[a]
48	20±10.14[b]	10±9.53[a]	6.67±7.86[a]	13.33±8.20[ab]
72	13.33±10.14[b]	6.67±9.53[a]	3.33±7.86[a]	6.67±8.20[a]
96	10±10.14	0	0	3.33±8.20
120	3.33±10.14	0	0	0
144	0	0	0	0

อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

อักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
99206

2.2 อสุจิที่มีชีวิต

จากการทดลอง เมื่อตรวจหาอสุจิที่มีชีวิตในน้ำเชื้อสด พบว่า มีอสุจิที่มีชีวิตเฉลี่ย 99% และลักษณะของเซลล์อสุจิที่มีชีวิต มีลักษณะดังแสดงในภาพที่ 1 แต่เมื่อทำการเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ ทั้ง 4 สูตร คือ extender-C, IM (Immobilizing Medium), 0.85% NaCl และ Kurokura-1 มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต เฉลี่ย 96±13.84, 98±10.74, 91.33±12.54 และ 88.67±11.17 ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการทดลองของ Routray et al. (2006) ที่ทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา Indian major carp (*Labeo rohita*) ที่ตายแล้ว โดยนำมาทดสอบกับสารเจือจางน้ำเชื้อ Extender-C พบว่ามีอสุจิที่มีชีวิต 100%

หลังจากเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารเจือจางน้ำเชื้อ extender-C มี

เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มี

(ตารางที่ 2) อสุจิต

รองลงมา คือ Kurc

Medium) และ0.85

ตารางที่ 2 แสดงเ

รักษาที่

ถิติ ($P<0.05$)

oextender-C

Immobilizing

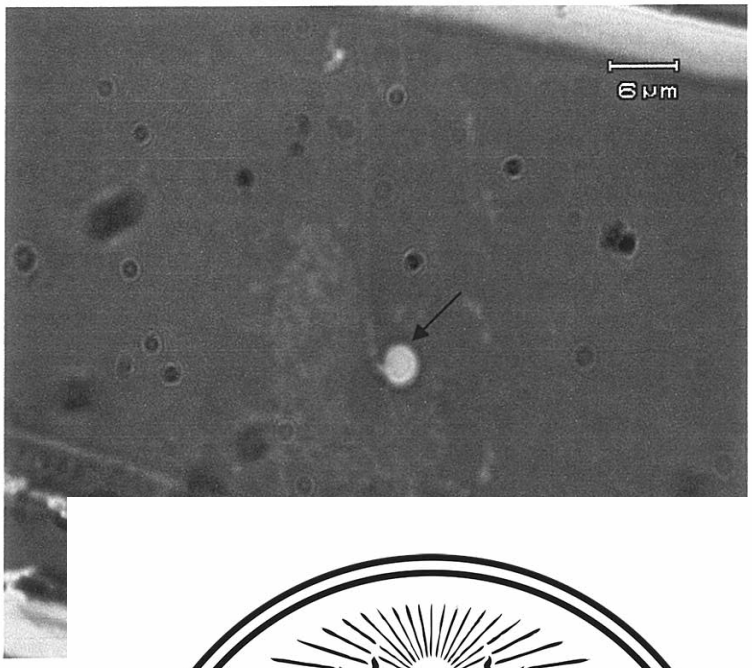
สูตร ที่เก็บ

ช่วงระยะเวลา(ชั่				Kurokura-1
0			b	88.67 ± 11.17 a
6			ab	63.67 ± 11.17 ab
12				48.33 ± 11.17 c
24	45.67 ± 13.84	8.33 ± 10.74	12 ± 12.54	8.67 ± 11.17 b
48	22.67 ± 13.84 a	8.67 ± 10.74 b	4.67 ± 12.54 b	8 ± 11.17 b
72	12 ± 13.84 a	3.33 ± 10.74 b	1 ± 12.54 b	2 ± 11.17 b
96	8 ± 13.84	0	0	1.33 ± 11.17
120	1.67 ± 13.84	0	0	0
144	0	0	0	0

อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงลักษ

2.3 อสุจิที่มี

จากการทด

พบว่า อสุจิที่มีลักษ

ต่างๆ พบว่า เปอร์เซ็

(P>0.05) (ตารางที่ 3

เมื่อตรวจหา

องน้ำเชื้อสด

างน้ำเชื้อสูตร

คัญทางสถิติ

งใน ภาพที่ 2

าทันที ไม่พบ

ความผิดปกติของอสุจิ (หางงอ) แต่เมื่อเก็บรักษานาน 6 ชั่วโมง สารเจือจางน้ำเชื้อ IM (Immobilizing Medium), 0.85% NaCl และ Kurokura-1 จะเริ่มมีความผิดปกติ (หางงอ) และมีลักษณะของเซลล์อสุจิที่ผิดปกติ(หางงอ) มีลักษณะดังแสดงใน ภาพที่ 3 แต่ในสารเจือจางน้ำเชื้อ extender-C เริ่มมีความผิดปกติ (หางงอ) เมื่อเก็บรักษานาน 24 ชั่วโมง และพบว่า เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้อสุจิ มีลักษณะผิดปกติ (หางงอ) เพิ่มสูงขึ้นตามด้วย (ตารางที่ 4)

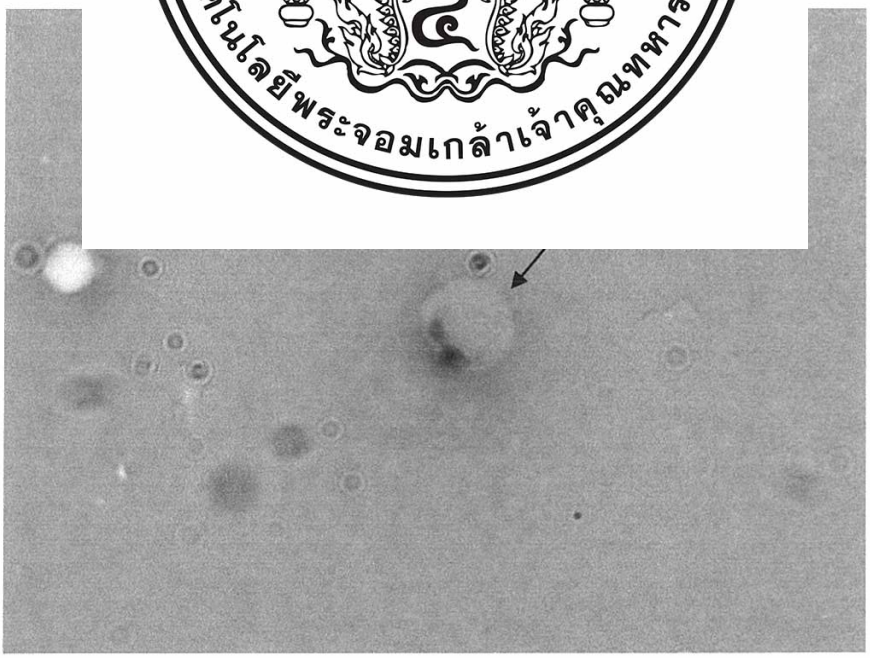
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ของอสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หัวโต) ของปลาลิ่นฮื้อในสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ

ช่วงระยะเวลา(ชั่วโมง)	สารเจือจางน้ำเชื้อ			
	Extender-C	IM	0.85% NaCl	Kurokura-1
0	3.67±1.57 [a]	2±2.03 [a]	3.67±4.36 [a]	4±1.92 [a]
6	4±1.57 [a]	17.67±2.03 [a]	5±4.36 [a]	5±1.92 [a]
12	3±1.57 [a]	8.33±2.03 [a]	1.67±4.36 [a]	6±1.92 [a]
24	7.33±1.57 [a]	14.67±2.03 [a]	17.67±4.36 [a]	12±1.92 [a]
48	14±1.57 [a]	18±2.03 [a]	10.33±4.36 [a]	17±1.92 [a]
72				14.67±1.92 [a]
96				14.67±1.92 [a]
120				0.33±1.92 [ab]
144				15±1.92 [a]

อักษรที่เหมือนกันในแ 05)

อักษรที่ไม่เหมือนกันใ 05)



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะของเซลล์อสุจิที่ผิดปกติ (หัวโต)

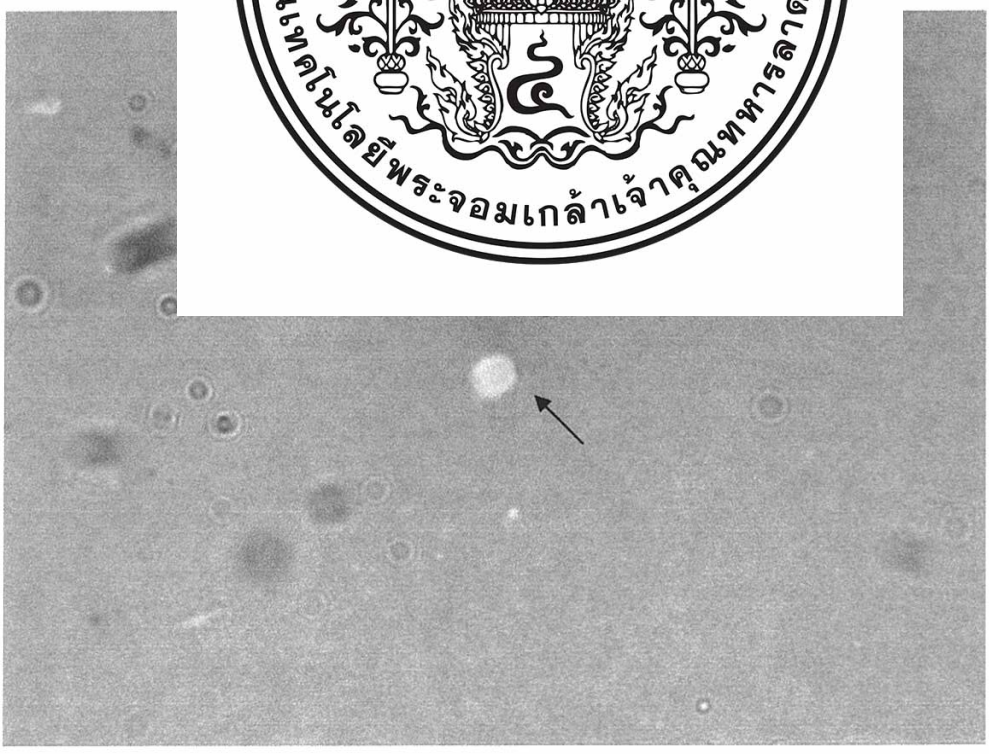
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4_ แสดงเปอร์เซ็นต์ของอสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หางงอ) ของปลาลิ่นฮื้อในสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ

ช่วงระยะเวลา(ชั่วโมง)	สารเจือจางน้ำเชื้อ			
	Extender-C	IM	0.85% NaCl	Kurokura-1
0	0	0	0	0
6	0	9.33±10.92[a]	2.33±11.44[a]	10.33±11.19[a]
12	0	67±10.92[b]	4±11.44[a]	3±11.19[a]
24	13±12.23[a]	22±10.92[b]	76±11.44[b]	57±11.19[c]
48	9.67±12.23[a]	47.67±10.92[b]	81±11.44[c]	59±11.19[b]
72				81±11.19[a]
96				69±11.19[a]
120				78±11.19[a]
144				3.33±11.19[b]

อักษรที่เหมือนกันในแ 05)

อักษรที่ไม่เหมือนกันใ)5)



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของเซลล์อสุจิที่ผิดปกติ (หางงอ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลอง ทดสอบประสิทธิภาพสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาลิ่นฮี้อ (*Hypophthalmichthys molitrix)* ด้วยวิธีการแช่เย็น สารเจือจางน้ำเชื้อ extender-C สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้นานที่สุด คือ 120 ชั่วโมง รองลงมา คือ Kurokura-1เก็บรักษาน้ำเชื้อได้นาน 96 ชั่วโมง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อ IM (Immobilizing Medium) และ0.85% NaCl สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้นานเพียง 72 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์ การเคลื่อนไหวของอสุจิในสารเจือจางน้ำเชื้อทั้ง 4 สูตร คือ extender-C, IM (Immobilizing Medium), 0.85% NaCl และKurokura-1 มีค่าเฉลี่ย 80±10.14, 83.33±9.53, 63.33±7.86 และ 73.33±8.20 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิสูงสุดในสารเจือจางน้ำเชื้อ IM (Immobilizing Medium) เมื่อทำการเก็บรักษานาน 6 ชั่วโมง สารเ สูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรอื่นๆ ำน้ำเชื้อนาน 6 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์ก งกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรอื่นๆ มื่อเข้าสู่ 144 ชั่วโมง ส่วนสารเจือ จือจางน้ำเชื้อ IM (Immobilizing M การเจือจา Immobilizing Medium), 0.85% N 4, 98±10.74, 91.33±12.54 และ ำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่าง หลังจากเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นเวล ต์อสุจิที่มีชีวิตสูงกว่า สารเจือจา ซ็นต์อสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หัวโต)ในสารเจือจางน้ำเชื้อทั้ง 4 สูตร ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) อสุจิที่มีลักษณะที่ผิดปกติ (หางงอ) พบว่า เมื่อทำการเก็บรักษาทันที ไม่พบความผิดปกติของอสุจิ (หางงอ) แต่เมื่อเก็บรักษานาน 6 ชั่วโมง สารเจือจางน้ำเชื้อ IM (Immobilizing Medium), 0.85% NaCl และ Kurokura-1 เริ่มมีความผิดปกติ (หางงอ) แต่ในสารเจือจางน้ำเชื้อ extender-C เริ่มมีความผิดปกติ (หางงอ) เมื่อเก็บรักษานาน 24 ชั่วโมง และพบว่า เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้อสุจิมีลักษณะผิดปกติ (หางงอ) เพิ่มสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการตรวจสอบการเคลื่อนไหวของอสุจิ จะต้องทำการตรวจนับหาเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิในทันที เพราะว่า เมื่ออสุจิปลาถูกกระตุ้นด้วยน้ำแล้ว จะมีการเคลื่อนไหวเพียงช่วงระยะเวลาสั้นๆ ไม่เกิน 30 วินาที เมื่อผ่านช่วงระยะเวลาดังกล่าวนี้แล้ว อสุจิจะหยุดการเคลื่อนไหวและตายลง
2. การตรวจสอบการเคลื่อนไหวของอสุจิ ควรที่จะใช้เครื่องวัดการเคลื่อนไหวของอสุจิ เช่น ในการทดลองของ Linhart et al.(2000) ที่ทำการตรวจสอบการเคลื่อนไหวของอสุจิปลาไน (*Cyprinus carpio*) โดยการใช้กล้อง Video-recorded (Sony SVHS, SVD-9500 MDP) ในการตรวจสอบ เพื่อเพิ่มความสะดวกและความแน่นอน ชัดเจนของผล
3. การตร ...าษณะผิดปกติ (หัวโต ...รวจสอบ เช่น การตร ...า field หลายๆ จุด พร้ ...จะต้องกระทำหลายๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2545. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแช่แข็ง. วารสารการประมง 55(1) : 65-69.

กฤษณ์ มงคลปัญญา. 2536. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 128 น.

เฉลิมวิไล ชื่นศรี. 2539. การเลี้ยงปลาจีน. บทความการเพาะเลี้ยงปลา. http://www.nicaonline.com

ทัศนีย์ ภูพิพัฒน์, บุญนำ สุขทิศ, สุริยา ทานสุทัศน์ และเพียงใจ แก้วจรูญ. 2529. การเก็บรักษาน้ำเชื้

ประมงน้ำจืด

แห่งชาติ, ก

ทัศนีย์ ภูพิพัฒน์, บ

ใจ แก้วจรูญ.

2532. การ

ารฉบับที่ 101

สถาบันประ

นิศา ไชยรักษ์. 253

พนธ์ปริญญา

โท. มหาวิท

พลชาติ ผิวเณร, ค

ำเชื้อปลานิล

โดยวิธีการแ

ปี 2547.กรม

ประมง, กรุ

ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 254

ระมง, คณะ

เทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร. 191 น.

Emri, M., T. Marian, L. Tron, L. Balkay and Z. Krasznai. 1998. Temperature adaptation changes ion concentrations in spermatozoa and seminal plasma of common carp without affecting sperm motility. Aquaculture. 167 : 85-94.

Linhart, O., M. Rodina and J. Cosson. 2000. Cryopresdervation of sperm in Common Carp *Cyprinus carpio* : Sperm motility and hatching success of embryos. Cryobiology. 41 : 241-250.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Linhart, O., M. Rodina, M. Flajshans, D. Gela and M. Kocour. 2005. Cryopreservation of European catfish *Silurus glanis* sperm : Sperm motility, viability and hatching success of embryos. Cryobiology. 51 : 250-261.

Poupard, G. P., C. Paxion, J. Cosson, C. Jeulin, F. Fierville and R. Billard. 1998. Initiation of carp spermatozoa motility and early ATP reduction after milt contamination by urine. Aquaculture. 160 : 317-328.

Routray, P., A.K. Choudhary, S.N. Dash, D.K. Verma, C. Dash, P. Swain, J.K. Jena, S.D. Gupta and N. Sarangi. 2006. Cryopreservation of dead fish spermatozoa several hours after death of Indian major carp, *Labeo rohita* and its successfu 1.

Velasco-Santamar allas. 2006. Cryoprese arg e scale fertilization

Warnecke, D. an ozen/thawed common c amide as the main cryop

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิปลาลิ่นฮื้อในสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ

ช่วงระยะเวลา(ชั่วโมง)	สารเจือจางน้ำเชื้อ			
	Extender-C	IM	0.85% NaCl	Kurokura-1
	80	90	70	70
0	80	80	60	80
	80	80	60	70
				40
6				40
				50
				30
12				40
				30
				20
24				20
				20
				10
48				20
				10
				10
72				10
	20	10	0	0
	10	0	0	0
96	10	0	0	10
	10	0	0	0
	0	0	0	0
120	10	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
144	0	0	0	0
	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของปลาลิ่นฮื้อในสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตรที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ

ช่วงระยะเวลา(ชั่วโมง)	สารเจือจางน้ำเชื้อ			
	Extender-C	**IM**	**0.85% NaCl**	**Kurokura-1**
	95	99	89	89
0	99	97	95	89
	94	98	90	88
	96	50	40	25
6	95	40	87	83
				83
				38
12				77
				30
				13
24				8
				5
				7
48				12
				5
				3
72				3
				0
	14	0	0	0
96	4	0	0	4
	6	0	0	0
	0	0	0	0
120	5	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
144	0	0	0	0
	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หัวโต) ของปลาลิ่นฮื้อในสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ

ช่วงระยะเวลา(ชั่วโมง)	สารเจือจางน้ำเชื้อ			
	Extender-C	**IM**	**0.85% NaCl**	**Kurokura-1**
	5	1	3	3
0	1	3	4	4
	5	2	4	5
	4	6	9	9
6				1
				5
				4
12				10
				4
				13
24				8
				15
				18
48				19
				14
				15
72				16
				13
				15
96	8	29	38	19
	9	14	40	10
	13	18	24	25
120	13	11	17	17
	16	15	32	19
	10	17	22	13
144	10	15	32	18
	13	13	24	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีลักษณะผิดปกติ (หางงอ) ของปลาลิ่นฮื้อในสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 สูตร ที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่างๆ

ช่วงระยะเวลา(ชั่วโมง)	สารเจือจางน้ำเชื้อ			
	Extender-C	IM	0.85% NaCl	Kurokura-1
	0	0	0	0
0	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	2	7	28
6	0	17	0	1
	0	9	0	2
				1
12				0
				8
				50
24				61
				60
				44
48				63
				70
				77
72				79
				87
				77
96				64
				66
	65	75	75	74
120	71	85	79	79
	72	81	59	81
	88	82	71	73
144	85	84	60	78
	85	87	73	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้