ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของจำนวนอสุจิต่ออัตราการปฏิสนธิในปลาดุกอุย
Effect of Sperm Number Per Egg on Fertilization Rate in Walking Catfish
(*Clarias macrocephalus Gunther)*

ชื่อนักศึกษา นางสาว ชุติมา ไข่มุกข์

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ

ได้รับพิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

(รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ ๒๐ เดือน มี.ค. พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20546

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของจำนวนอสุจิต่ออัตราการปฏิสนธิในปลาดุกอุย

Effect of Sperm Number Per Egg on Fertilization Rate in Walking Catfish (*Clarias macrocephalus Gunther*)

T099341

โดย

นางสาว ชุติมา ไข่มุกข์

ปก.
ช617ผ
2547
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของจำนวนอสุจิต่ออัตราการปฏิสนธิในปลาดุกอุย

Effect of Sperm Number Per Egg on Fertilization Rate in Walking Catfish

(*Clarias macrocephalus Gunther)*

จากการทดลอง เปรียบเทียบอัตราปฏิสนธิในปลาดุกอุย Walking Catfish (*Clarias macrocephalus Gunther)* โดยใช้น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ปลาดุกอุยที่มีความยาวตัวเฉลี่ย 32.2 เซนติเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ย 216.25 กรัมต่อตัวและ น้ำหนักอัณฑะเฉลี่ย 1.33 กรัมต่อตัว ความเข้มข้นของอสุจิ 860 $x10^6$ ตัวต่อลูกบาศก์เซนติเมตร อัตราการเคลื่อนไหว 50 เปอร์เซ็นต์ และแม่พันธุ์ปลาดุกอุยที่มีความยาวตัวเฉลี่ย 34.13 เซนติเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ย 450 กรัมต่อตัว น้ำหนักไข่ทั้งหมดเฉลี่ย 32.03 กรัมต่อตัว ในระดับ ความเข้มข้นอสุจิที่ $50x10^4$, $1x10^6$ และ $150x10^4$ ตัวต่อฟอง พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิ 70.92 , 73.11, 68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิชาปัญหาพิเศษ ที่คอยให้คำแนะนำปรึกษาตลอดการทดลอง รวมทั้งช่วยแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องต่างๆตั้งแต่ต้น จนสามารถจัดทำปัญหาพิเศษเล่มนี้เสร็จอย่างสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ สมศักดิ์ บัณฑุชัย ที่ให้ความช่วยเหลือระหว่างการทดลองและอาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่อบรมสั่งสอนและให้วิชาความรู้แก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ขอขอบพระคุณ พี่บุพผา จงพัฒน์ ,พี่นิพนธ์ จิตตำนาน และเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่าน รวมทั้งขอบคุณเพื่อนๆทุกคนและน้องๆที่คอยให้ความช่วยเหลือแก่ข้าพเจ้าตลอดการทดลอง สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ผู้ให้กำเนิดเลี้ยงดูข้าพเจ้าอย่างดีตลอดมา และคอยให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางที่ดีแก่ลูกคนนี้ด้วยความรัก

นางสาว ชุติมา ไข่มุกข์

เมษายน 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	i
สารบัญตาราง	ii
สารบัญภาพ	iii
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	23
ผลการทดลองและวิจารณ์	27
สรุปและข้อเสนอแนะ	30
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	อัตราปฏิสนธิของปลาดุกอุย	29

ตารางผนวกที่		หน้า
1.	เปอร์เซนต์ค่าเฉลี่ยอัตราปฏิสนธิของไข่ปลาchannel catfish (*Ictalurus punctatus*)ที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิปลาBlue catfish (*I. Furcatus*) ที่แตกต่างกัน.	34
2.	เปอร์เซนต์ค่าเฉลี่ยอัตราปฏิสนธิของไข่ปลา channel catfish (*Ictalurus punctatus*) ที่ความหลากหลายของปริมาณไข่ที่ใช้ในการปฏิสนธิกับอสุจิปลาBlue catfish *(I. Furcatus)*	34
3.	อัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟักของปลา Asian catfish*(C. macrocephalus)* จากการผสมน้ำเชื้อกับASPในอัตราส่วนต่างๆ.	35
4.	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแม่พันธุ์ปลาดุกอุย	35
5.	อัตราปฏิสนธิของปลาดุกอุย	36
6.	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการปฏิสนธิปลาดุกอุย	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. อัตราการปฏิสนธิของปลาดุกอุยตามระดับความเข้มข้นของอสุจิ 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของจำนวนอสุจิต่ออัตราการปฏิสนธิในปลาดุกอุย

Effect of Sperm Number Per Egg on Fertilization Rate in Walking catfish , (*Clarias macrocephalus*)

คำนำ

สภาพแวดล้อมของแหล่งน้ำทางธรรมชาติในปัจจุบันนี้ ได้เปลี่ยนแปลงไปมาก จากที่เคยอุดมสมบรูณ์ด้วยพันธุ์ปลาต่างๆ ดังที่คนรุ่นก่อน เคยกล่าวไว้ว่า "ในน้ำมีปลา ในนามีข้าว " ซึ่งคนรุ่นปู่ย่าตายายของเราเคยจับปลาจากแม่น้ำลำคลอง มาเพื่อบริโภคกันในครัวเรือนอย่างพอเพียง แต่ปัจจุบันนี้ ประชากรโลกเพิ่มจำนวนมากขึ้นทำให้มีความต้องการอาหารซึ่งเป็นแหล่งพลังงานมากขึ้น และปลาเป็นแหล่งโปรตีนที่ประชากรนิยมรับประทาน เนื่องจาก ราคาค่อนข้างถูกและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่มีไขมันและคอเรสเตอรอลต่ำ ย่อยง่ายเหมาะที่นำมาเป็นอาหารแก่คนทุกวัยเพื่อสุขภาพที่ดีของผู้บริโภค (ชนิกา,2542) ทำให้จำเป็นที่จะต้องมีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการบริโภค จนกลายเป็นการค้า และพัฒนาไปจนถึงขั้นการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงอุตสาหกรรม ศักดิ์ชัย (2538) กล่าวว่า ปัจจุบันนี้ สัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศบางชนิดเริ่มที่จะหายาก หรือใกล้ที่จะสูญพันธุ์ ไปจากสภาพแวดล้อม เช่น ปลาดุกอุย ปลาบึก ปลาเทโพ ปลาเทพา ฯลฯ ปลาที่หายากเหล่านี้จึงจำเป็น ต้องได้รับการเพาะขยายพันธุ์ให้มีปริมาณมากขึ้น แต่ในทาง ปฏิบัติมักประสบปัญหา การจับปลาเพศผู้และเพศเมียได้ไม่พร้อมกัน หรือจับได้แต่เพศเมียเท่านั้น ทัศนีย์และคณะ (2529) พบว่า จากปัญหาการจับเพศผู้และเพศเมียได้ไม่พร้อมกันทำให้พ่อแม่พันธุ์ที่ถูกจับได้ก่อนบอบช้ำ และตาย ศักดิ์ชัย (2538) เสนอแนวทางการแก้ปัญหาโดย การเก็บน้ำเชื้อปลาไว้เพื่อการผสมเทียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาโดยวิธีการแช่แข็ง ซึ่งน้ำเชื้อแช่แข็งสามารถนำมาใช้ผสมพันธุ์ได้ตลอดเวลา

การเก็บรักษาเซลล์สืบพันธุ์แบบแช่แข็ง จึงเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยพัฒนา ด้านการเพาะขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจาก สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการอนุรักษ์สายพันธุ์ที่สำคัญ และการปรับปรุงพันธุ์ เช่น เพาะพันธุ์ลูกผสม ได้แก่ ปลาไน และ ปลาดุก การเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งปลา จะเป็นประโยชน์มาก หากสามารถพัฒนาจนสามารถ มีอัตราการผสมติด หรือเปอร์เซนต์การผสมติดใกล้เคียงกับน้ำเชื้อสด สามารถใช้ง่ายและมีปริมาณมากพอ (เกรียงศักดิ์ , 2545) อย่างไรก็ตาม น้ำเชื้อที่จะเก็บรักษาไว้ในสภาพแช่แข็ง ต้องผ่านกระบวนการทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตหลายขั้นตอน และ ก่อนที่จะนำน้ำเชื้อที่รีดได้จากพ่อพันธุ์ปลามาทำเป็น น้ำเชื้อปลาแช่แข็ง ควรที่จะมีการตรวจสอบ หรือประเมินคุณภาพน้ำเชื้อก่อน เพื่อที่จะทราบว่า น้ำเชื้อที่ได้มานั้น ควรนำไปผ่านกระบวนการแช่แข็ง เพื่อเก็บไว้ใช้ในงานผสมเทียมหรือไม่ หากว่าตรวจสอบแล้ว พบว่าคุณภาพน้ำเชื้อนั้นๆ ไม่ได้มาตรฐาน จะได้ไม่เสียเวลา และ ค่าใช้จ่ายในการผลิตน้ำเชื้อปลาแช่แข็งที่มีคุณภาพต่ำเพื่อนำไปใช้งานอย่างด้อยประสิทธิภาพ (ศักดิ์ชัย,2538) ชนิกา,(2542)อ้างตามวิทย์,(2521) พบว่าการผสมเทียมปลาโดย ไม่คำนึงถึงอัตราส่วนระหว่างไข่และอสุจิ มีผลทำให้น้ำเชื้อหรือพ่อพันธุ์ปลา ในกรณีที่ต้องผ่าเอาอัณฑะออกมาสูญเสียไปโดยไม่เหมาะสมกับคุณค่าทางเศรษฐกิจ เกรียงศักดิ์,(2540) กล่าวว่า คุณภาพน้ำเชื้อที่ผ่านการประเมินสามารถที่จะคาดคะเนอัตราการปฏิสนธิได้ เช่น การเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ และอัตราการปฏิสนธิจะแปรผันตามกัน ส่วน การฉีดฮอร์โมนช่วยให้การรีดอสุจิ และปริมาตรอสุจิและของเหลวมากขึ้น แต่ไม่ช่วยสร้างอสุจิเพิ่มขึ้น รวมทั้งความหนาแน่นของอสุจิจะสัมพันธ์กับปริมาตรอสุจิในของเหลวทั้งหมด ชนิกา (2542) พบว่า ถ้าเราทราบ ความหนาแน่นของอสุจิต่อไข่ในการปฏิสนธิ จะทำให้สามารถเตรียมน้ำเชื้อแช่แข็งในความเข้มข้นที่พอดีกับจำนวนไข่และนำมาใช้ได้เร็วขึ้น การทราบจำนวนอสุจิต่อไข่ที่มีอัตราการปฏิสนธิดีที่สุดจะสามารถนำไปปรับใช้ในการผสมเทียมได้ทั้งแบบใช้น้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็ง ให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นช่วยลดความฟุ่มเฟือยในการใช้น้ำเชื้อเพื่อให้ได้ลูกปลาจำนวนมากขึ้น มณีรัตน์ (2544) รายงานว่า ในปลาดุกซึ่งมีอัณฑะอยู่ลึกลงไปใต้ระบบทางเดินอาหารและผนังท้องหนาจึงจำเป็นต้องผ่าท้องปลาดุกเอาน้ำเชื้อ ดังนั้นน้ำเชื้อที่ได้มาจึงควรใช้ให้เกิดประโยชน์คุ้มค่ามากที่สุด ฐิติมา (2545) กล่าวว่า ในกรณีที่ต้องการผสมพันธุ์ข้ามถิ่นหรือ ชนิดเพื่อสายพันธุ์ใหม่ การขนย้ายไปเฉพาะน้ำเชื้อย่อมสะดวกกว่าการขนย้ายพ่อพันธุ์ไป การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลามีขอบเขตการเก็บรักษา ตั้งแต่ 2-3ชั่วโมง จนถึงเก็บได้เป็นปีๆ ขึ้นอยู่กับขึ้นอยู่กับชนิดของปลาและวิธีในการเก็บรักษา อย่างไรก็ตาม การเก็บน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็งเหมาะสำหรับการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ หรืออสุจิเพื่อการศึกษา และคัดเลือกผสมพันธุ์หรือการผสมข้ามชนิดพันธุ์ (กฤษณ์และทัศนีย์ ,2532) จากที่กล่าวมา จะเห็นได้ว่าในการศึกษาถึงความหนาแน่นของอสุจิต่อไข่ปลาเพื่อคาดคะเนการปฏิสนธิมีประโยชน์อย่างมากต่อการพัฒนาการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแช่แข็ง และน้ำเชื้อปลาแบบสด เพื่อให้ได้น้ำเชื้อปลาคุณภาพดี อัตราผสมติดสูงและยังเป็นการใช้ประโยชน์จากน้ำเชื้อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ซึ่งปัจจุบันนี้ กรมประมงได้จัดตั้งธนาคารเชื้อพันธุ์สัตว์น้ำ เพื่อเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งให้เพียงพอที่จะใช้งานในอนาคต โดยเฉพาะในสัตว์น้ำที่ใกล้สูญพันธุ์สัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญสามารถเก็บน้ำเชื้อในรูปแช่แข็งได้นานสูงสุดประมาณ 500วันขึ้นไป (กรมประมง,2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึง อัตราส่วนที่เหมาะสมของอสุจิต่อไข่ ที่ทำให้มีอัตราการปฏิสนธิดีที่สุด ในปลาดุกอุย โดยใช้ความหนาแน่นของอสุจิที่แตกต่างกันใน 3 ระดับความเข้มข้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐาน ในการพัฒนากระบวนการผสมเทียมโดยการใช้ความเข้มข้นและปริมาณอสุจิต่อไข่ที่เหมาะสมในปลาดุกอุย และการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีคุณภาพเพื่อให้เกิดผลผลิตทัดเทียมกับการใช้น้ำเชื้อสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ปลาดุกอุยเป็นปลาที่อาศัยอยู่ทั่วไปทั้งในน่านน้ำจืดแถบเขตร้อนบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น อินเดีย ไทย พม่า ลาว กัมพูชา เวียดนาม อินโดนีเซีย และหมู่เกาะบอร์เนียว ฟิลิปปินส์ สำหรับประทศไทย จะพบว่ามีอยู่ทั่วไปทั่วทุกภาค โดยธรรมชาติปลาดุกอุยจะอาศัยในแหล่งน้ำจืด (กรมประมง,2530) แม้แต่ในแหล่งน้ำค่อนข้างกร่อยก็สามารถอาศัยอยู่ได้ เช่น แถบสมุทรปราการ และ ฉะเชิงเทรา (สุภาพร,2538) ปลาดุกอุย จัดอยู่ในครอบครัว Clariidae ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Calrias macrocephalus* ชื่อสามัญ คือ Gunther's walking catfish ขนาดตั้งแต่ 15-35 เซนติเมตร ส่วนของกระดูกท้ายทอยของปลาดุกอุยจะกลมมน ต่างจากปลาดุกด้านที่ยื่นแหลมคล้ายรูปสามเหลี่ยม (สัมฤทธิ์,2544) มีหนวด 4 คู่ ไม่มีเกล็ด รูปร่างยาวเรียว ครีบหลังยาวไม่มีกระโดง ครีบท้องยาวเกือบถึงโคนหาง มีอวัยวะช่วยในการหายใจเรียกว่า เดนไดรท์ หรือ อวัยวะอาร์บอเรสเซนต์ (dendrite หรือ arborescent organ) มีลักษณะเป็นกลุ่มท่อเล็กๆ รวมกัน ซึ่งรวมกันเป็นช่อที่แตกกิ่งก้านสาขา จึงช่วยให้ปลาดุกสามารถอยู่พ้นน้ำได้นาน ตามีขนาดเล็กมาก เมื่อเทียบกับขนาดของลำตัวผนังท้องสีขาวถึงเหลือง สัดส่วนระหว่างหัว:ตัวคือ 1:4 (สุภาพร,2539)

ภาณุ และคณะ (2538) รายงานว่า ระยะจากปลายกระดูกท้ายทอยถึงจุดเริ่มต้นของครีบหลังประมาณ 1 ใน 5-7 ของความยาวจากปลายสุดของจงอยปากถึงปลายกระดูกท้ายทอย ครีบหลังมีก้านครีบ 68-72 ก้าน ครีบก้นมีก้านครีบ 47 –52 ก้าน มีจำนวนกระดูกซี่โครงประมาณ 32 ซี่ ลักษณะสีของลำตัวมีสีเทาปนดำและเหลือง กรมประมง (2530) รายงานว่า หนวดของปลาดุก สามารถรับความรู้สึกได้ดีจึงใช้หนวดในการหาอาหาร มากกว่าใช้ตาเมื่อหาอาหารตามพื้นดิน โดยปกติปลาดุกมีนิสัยว่องไว ชอบกินอาหารจำพวกเนื้อสัตว์มากกว่า อาหารประเภทพืชและแป้ง ในการเลี้ยงควรให้อาหารประเภทเนื้อประมาณ 30-50% ของอาหารประเภทพืชและแป้ง เพื่อให้ปลาดุกโตได้สัดส่วน ไม่อ้วนสั้นเกินไป

ปลาดุกอุยมีรสชาติดี โตเร็ว สามารถนำมาเพาะพันธุ์ได้ ตั้งแต่อายุ 8 เดือนขึ้นไป ก็สามารถสังเกตอวัยวะเพศได้ชัดเจน ปลาเพศเมียมีอวัยวะเพศรูปไข่ปลายมน ส่วนเพศผู้มีอวัยวะเพศเรียวแหลม ฤดูวางไข่ คือ ฤดูฝน ระหว่างเดือน พฤษภาคม – ตุลาคม เมื่อถึงฤดูวางไข่ปลาเพศเมียท้องจะอูมพอง ท้องนิ่ม อวัยวะเพศจะเห็นเป็นรูปวงรีกว้างใหญ่กว่าเพศผู้ ไข่ปลาดุกอุยเป็นไข่จม และติดวัสดุ มีสีน้ำตาลอมแดง มีลักษณะเป็นเม็ดกลมเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.2-2.4 มิลลิเมตร อุณหภูมิน้ำที่เหมาะสมแก่การฟักเป็นตัวที่ 25 –32 องศาเซลเซียส ปริมาณของไข่ขึ้นกับความสมบรูณ์ของแม่ปลา แม่ปลาหนัก 300-800 กรัมจะวางไข่ได้ครั้งละประมาณ 5000 –7000 ฟอง (วิริยา,2546) ลูกปลาอายุ 15วันสามารถแยกเพศได้จากอวัยวะสืบพันธุ์ภายใน (พรรณศรี และคณะ,2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบบสืบพันธุ์ของปลาดุกอุย

อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (female reproductive organ)

ปลาดุกอุยมีรังไข่ 2 ฝัก แบ่งการพัฒนาของไข่โดยการศึกษาในรังไข่ปลาเป็น 6 ระยะ ตามการแบ่ง ของ Groman (1982) และ ปวีณา (2530) ดังนี้

ไข่ระยะที่ 1 (Oocyte stage1) ไข่มีขนาดเล็กมากยังอยู่ในรูปของ oogonia ติดสีชมพูจางอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันล้อมรอบ มีนิวเคลียสกลมตรงกลางเซลล์ พบมากในปลาอายุน้อย เช่นเมื่อปลาอายุ 15 วัน 1 เดือน และ 1.5เดือน (99%,90%และ 80%) ตามลำดับ ส่วนปลาที่มีอายุถึงวัยเจริญพันธุ์จะพบน้อยมาก

ไข่ระยะที่ 2 (Oocyte stage2) ไข่จะมีขนาดใหญ่ขึ้น ติดสีชมพูจาง นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ขึ้น ติดสีจางกว่าไซโตพลาซึม ยังไม่เห็น follicular cell พบตั้งแต่ปลาดุกอุยอายุ 1เดือน จะพบมากเมื่อปลามีอายุ 2.5เดือน (35.5%)

ไข่ระยะที่ 3 (Oocyte stage3) ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น ค่อนข้างเป็นรูปสามเหลี่ยม นิวเคลียสอาจไปอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของไข่ปลา มีการพัฒนาของเซลล์เยื่อบุ follicular ไซโตพลาซึมติดสีน้ำเงินเข้ม ภายในนิวเคลียสเริ่มเห็น provitelline nucleoli กระจายทั่วไป พบในปลาดุกตั้งแต่ อายุ1.5 เดือนขึ้นไป ประมาณ2% พบไข่ระยะนี้มากเมื่อปลามีอายุ 3และ3.5 เดือน

ไข่ระยะที่ 4 (Oocyte stage4) ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น มีรูปร่างค่อนข้างกลม พบว่ามี provitelline nucleoli เคลื่อนที่ไปอยู่ที่ขอบของนิวเคลียส นิวเคลียสติดสีชมพูไซโตพลาซึมติดสีน้ำเงินปนชมพู เมื่อเปรียบเทียบกับไข่ระยะที่2และ 3 เริ่มเห็นyolk granules และ fat vacuole เริ่มพบเมื่อปลามีอายุ 2 เดือน มีไข่ระยะนี้ประมาณ3% จนถึง1ปี พบมากที่สุดเมื่อปลามีอายุประมาณ 4.5 เดือน ประมาณ 30%

ไข่ระยะที่ 5 (Oocyte stage5) ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น มี yolk granulesและ fat vacuole เพิ่มมากขึ้นในไซโตพลาซึม พบ zona radiata และเยื่อบุ follicular บริเวณขอบเซลล์ไข่จะเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์รูปทรงเหลี่ยม หรือสี่เหลี่ยมทรงสูง พบตั้งแต่ปลาดุกอุยอายุ 2เดือนมีประมาณ2% ซึ่งพบค่อนข้างน้อย แต่จะพบมากที่สุด เมื่อปลามีอายุ 5เดือนจนถึง1ปี (30%)

ไข่ระยะที่ 6 (Oocyte stage6) ไข่มีขนาดใหญ่มากขึ้น ลักษระเด่นของไข่ระยะนี้คือในไซโตพลาซึมมี yolk granulesใหญ่ขึ้น กระจายใน fat vacuole ซึ่งมีปริมาณมาก นิวเคลียสเล็กติดสีชมพู สังเกต เห็นว่าผนังที่ล้อมรอบไข่ระยะนี้จะหนาไม่เท่ากันตลอด ยังคงเห็น zona radiata , follicular cell และ theca ชัดเจน เริ่มพบไข่ระยะนี้เมื่อปลาอายุ 3.5เดือน ประมาณ17%และเพิ่มพบมากขึ้นเมื่อปลามีอายุ 9เดือน เป็นต้นไปจะมีไข่ระยะนี้ประมาณ 35%ขึ้นไปและ พบว่ามีจำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากที่สุดเมื่อปลามีอายุ1ปี ประมาณ 50% แสดงว่าปลาสามารถผสมพันธุ์ได้ดีมากเมื่ออายุ 9 เดือนขึ้นไป และเมื่อปลาอายุ 1ปี คาดว่าเป็นช่วงที่ดีที่สุดในการผสมพันธุ์

ไข่เสีย (degenerate egg) เป็นไข่ที่เสื่อมสลายไป มีลักษณะรูปทรงไม่แน่นอน ไม่เห็นนิวเคลียส หรือไซโตพลาซึม พบน้อยมากในปลาอายุ 6.5-8.5เดือน (ประมาณ1-3%) พบมากที่สุดเมื่อปลามีอายุ 7 เดือน (5%) อาจเนื่องจากไข่ในระยะที่6 จำนวนมากเมื่อปลามีอายุ6.5 เดือน แต่ปลายังไม่ถึงวัยเจริญพันธุ์ ไข่จึงเริ่มเสื่อมสลายลงเมื่อปลามีอายุ 7-8.5เดือน (พรรณศรีและคณะ,2538 อ้างตาม Groman ,1982และ ปวีณา ,2530)

ลักษณะทั่วไปของไข่

ส่วนประกอบของไข่ปลามี 3 ส่วน (ศักดิ์ชัย,2538) คือ

1. นิวเคลียส และไซโตพลาซึมหรือ germinal disc เมื่อเกิดการปฏิสนธิส่วนนี้จะแบ่งเซลล์เจริญเป็นคัพภะ (embryo)

2. yolk ถูกล้อมรอบไว้ด้วย vitelline membrane ระหว่าง yolk กับเปลือกไข่ (chorion) มีช่องว่างเรียกว่า perivitelline space yolk ประกอบด้วย protein 2 ชนิด คือ lipovitelline กับ phosvitin ทั้ง 2 ชนิดเป็นโปรตีนที่รวมกับฟอสฟอรัส ไลปิด และคาร์โบไฮเดรต มีความแตกต่างกัน คือ lipovitelline มีฟอสฟอรัสน้อย ไลปิด และคาร์โบไฮเดรตมาก แต่ phosvitinมีฟอสฟอรัสมาก ไลปิด และคาร์โบไฮเดรตน้อย นอกจากนี้ในปลาหลายชนิดยังมีหยดน้ำมันเป็นแหล่งพลังงานของคัพภะ และยังเป็นส่วนที่ช่วยลดความถ่วงจำเพาะของไข่ปลามีผลต่อการลอยน้ำ

3. เปลือกไข่ เป็นสิ่งที่ห่อหุ้มส่วนต่างๆ ที่อยู่ภายในไม่ให้ได้รับอันตราย เปลือกไข่มีรูเล็กๆ 1รู เป็นทางเข้าของเชื้อตัวผู้ เรียกว่า micropyle อยู่ทาง animal pole ความหนาของเปลือกไข่ แตกต่างกันไปตามชนิดปลา

Linhart และคณะ (1995) อ้างตาม Ginsburg (1968) รายงานว่า ปลาตระกูล Cyprinids มีรู micropyle 1 รู บริเวณ animal pole มีเส้นผ่านศูนย์กลางของรู micropyle กว้างมากกว่า ปลาSalmonid และ Kudo .,(1983) รายงานว่า ในรู micropyle มีช่อง micropylar ซึ่งจะปิดเมื่ออสุจิผสมกับไข่ โดยทั่วไป cytoplasmic จะบวมพองขึ้นและ มี 19 –27 cytoplasmic finger รองรับอยู่

อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (male reproductive organ)

ปลาดุกอุย มีอัณฑะ (testis) 2 พู อยู่บริเวณเหนือเยื่อบุช่องท้อง ติดกับกระดูกสันหลังและอยู่ภายใต้ไตส่วนปลาย เป็นพูเล็กๆ คล้ายนิ้วมือเป็นริ้วๆ มีสีขาวครีม ถ้าปลาดุกอุยยังเจริญพันธุ์ไม่เต็มที่ ลักษณะเป็นริ้วคล้ายนิ้วมือจะเห็นไม่ชัด แต่ละพูของอัณฑะจะล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกี่ยวพัน (tunica albugina) บางๆ โดยมีกล้ามเนื้อเรียบล้อมรอบแยกจากกันอย่างชัดเจน ภายในเนื้อเยื่อมี interstitial กระจายอยู่ใน semiferous tubule จะมี germ cell ซึ่งจะพัฒนาการเจริญเป็นเซลล์สืบพันธุ์ต่างๆ Lehri (1967), Htun – Han (1987) , Billaid (1986) และ Sukumasavin (1992) ได้แบ่งการพัฒนาการสืบพันธุ์เพศผู้ (testis) แบ่งออกได้ 5 ระยะ ดังนี้

ระยะที่1 Spermatogonia เป็น germ cell เกิดขึ้นใน gonadal lamellaไซโตพลาซึมจะติดสีอีโอซิน (Eosin) นิวเคลียสค่อนข้างใหญ่ติดสีชมพู พบในทุกอายุของปลา ตั้งแต่อายุ 0.5 เดือน (15วัน) มีประมาณ 1%เป็นต้นไป มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.01-0.005มิลลิเมตร พบมากเมื่อปลามีอายุ 1.5 เดือน มีประมาณ 99%

ระยะที่2 Primary spermatocytes มีขนาดเล็กกว่า spermatogonia โดยเกิดจากการแบ่งเซลล์ของ spermatogonia มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.005-0.003มิลลิเมตร ติดสีชมพูเข้มกว่า spermatogonia นิวเคลียสติดสีเข้มซึ่งเป็นกลุ่มของ chomatin พบ ตั้งแต่ปลามีอายุ 1.5เดือน เป็นต้นไปประมาณ 1% พบมากเมื่อปลามีอายุ 5 เดือน มีประมาณ 30%

ระยะที่3 Secondary spermatocytes มีจำนวนมากกว่าและขนาดเล็กกว่า Primary spermatocytes ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.003-0.006 มิลลิเมตร โดยเกิดจากการแบ่งเซลล์ของ Primary spermatocytes นิวเคลียสติดสีชมพูเข้ม พบ ตั้งแต่ปลามีอายุ 2.5 เดือน (5%) พบมากเมื่อปลามีอายุ 6เดือน มีประมาณ30%

ระยะที่4 Spermatids มีขนาดเล็กมากกว่า secondary spermatocytes ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.001-0.003 มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดเล็กมาก เกิดจากการแบ่งเซลล์ของ secondary spermatocytes นิวเคลียสติดสีน้ำเงินเข้ม พบ ตั้งแต่ปลามีอายุ 3 เดือน (3%) พบมากที่สุดเมื่อปลาอายุ 11.5เดือน ประมาณ 31%

ระยะที่5 Spermatozoas เกิดจากการเปลี่ยนรูปร่างจาก spermatid โดยไม่ได้แบ่งเซลล์ แต่เปลี่ยนรูปร่างโดยมีหางเกิดขึ้น จะติดสีชมพู เริ่มพบเมื่อปลามีอายุ 3.5 เดือน (29%) พบมากที่สุดเมื่อปลามีอายุ 12 เดือน ประมาณ 45% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระยะที่ปลาสามารถผสมพันธุ์ได้เมื่ออายุ 9เดือน และผสมพันธุ์ได้ดีที่สุดเมื่อมีอายุ 12เดือน (พรรณศรีและคณะ,2538)

ลักษณะทั่วไปของอสุจิปลา

อสุจิของปลาไม่มี acrosome เหมือนอย่างในสัตว์มีกระดูกสันหลังกลุ่มอื่นๆ อาจเป็นเพราะไม่มีความจำเป็นต่อการใช้เพื่อเข้าไปในไข่เนื่องจากไข่ปลามีรู micropyle ไว้รอรับอยู่แล้ว (ศักดิ์ชัย,2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อสุจิมีส่วนประกอบ ดังนี้

1. หัว (head) ส่วนนี้ประกอบด้วยนิวเคลียส มีโครโมโซม 1 ชุด ล้อมรอบด้วยไซโตพลาซึม เพียงบางๆ และห่อหุ้มด้วย plasmalemma (cell membrane) รูปร่างลักษณะของส่วนหัวมีหลายแบบแล้วแต่ชนิดปลา

2. ส่วนลำตัว (midpiece) เชื่อมต่อระหว่างหัวและหาง มีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันตามชนิดของปลา ประกอบด้วย microtubules เป็นแกนกลางของส่วนหางล้อมรอบด้วยไซโตพลาซึมซึ่งภายในมี mitochondia และcentriole

3. หาง (fagellum) เป็นส่วนที่ช่วยในการเคลื่อนที่ประกอบด้วย microtubules เรียงกันรอบแกนกลางล้อมรอบด้วย plasmalemma membrane ปลาส่วนใหญ่มี microtubules เป็นแกนกลาง 1คู่ และเรียงรอบวงกลมอีก 9 คู่ ยกเว้น ในปลาพวก Anguiliformes และ Elopiformes ซึ่งไม่มี microtubules เป็นแกนกลางโดยส่วนใหญ่เชื้อเพศผู้มีหางเพียงหางเดียว ซึ่งลักษณะอสุจิที่มี 2หางพบบ้างในปลา Channel catfish ; *Ictalurus punctatus*

อสุจิของปลาดุกอุยส่วนหัวมีความกว้าง 2 ไมครอน ความยาวหาง 67.50ไมครอน (ศักดิ์ชัยและสมศักดิ์ ,2543) อสุจิปลาสามารถเคลื่อนไหวได้แตกต่างกันตามชนิดปลาและสภาพแวดล้อม เช่น อสุจิปลาน้ำกร่อยและปละทะเลมักเคลื่อนไหวได้นานกว่าปลาน้ำจืด (ศักดิ์ชัย ,2538) น้ำเชื้อปลา (milt) เมื่ออยู่ในอัณฑะหรือรีดออกมาสดๆ จะมีสีขาวคล้ายน้ำนม แต่ข้นเหนียวและมีกลิ่นคาว ถ้าน้ำเชื้อปลามีเลือดปนน้ำเชื้อจะไม่ดีส่งผลต่ออัตราการปฏิสนธิ (มณีรัตน์ ,2544 อ้างตาม นิศา ,2533) การเพาะพันธุ์ปลาดุกอุย มี 2 วิธี คือ การผสมเทียมและการผสมแบบธรรมชาติ ซึ่งการผสมเทียมปลาดุกอุยวิธีที่เหมะสมที่สุดเนื่องจากได้จำนวนลูกปลามากกว่าปล่อยให้ผสมพันธุ์ และน้ำเชื้อจากปลาดุกเทศตัวผู้ที่สมบรูณ์พันธุ์สามารถผสมกับไข่ปลาที่รีดได้จากเพศเมียประมาณ 10 ตัว (วริยา,2546)

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลา

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาโดยทั่วไป มี 5 วิธี ได้แก่

1. ลักษณะและปริมาตรน้ำเชื้อ (appearance and volume) ควรสังเกตและตรวจวัดทันทีหลังการรีดน้ำเชื้อ น้ำเชื้อสดๆจะมีสีขาวคล้ายน้ำนม มีกลิ่นคาวจัด ไม่ควรมีสีอื่นปนน้ำเชื้อปลาที่รีดออกมาได้ควรมีการตรวจวัดปริมาตรเพื่อนำมาคำนวณหาอัตราการเจือจางน้ำเชื้อ ปริมาตรน้ำเชื้อที่รีดได้จากปลาต่างชนิดและความหนาแน่นของอสุจิต่างกันในปลาแต่ละชนิด เพราะปลาต่างชนิดมีวิวัฒนาการดำรงเผ่าพันธุ์ต่างกัน เช่น ปลาดุก วางไข่จำนวนน้อยและปริมาตรน้ำเชื้อน้อย แต่เปอร์เซนต์การฟักเป็นตัวสูง เพราะไข่ปลาดุกจมติดวัตถุ และมีพฤติกรรมเฝ้าดูแลไข่และตัวอ่อน แต่ในปลาที่มีการวางไข่และปริมาตรน้ำเชื้อมาก เช่น ปลาตะเพียน ซึ่งไข่

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครึ่งลอยครึ่งจม พบว่าไม่มีพฤติกรรมเฝ้าดูแลไข่และตัวอ่อน (ศักดิ์ชัย,2538) การประเมินรูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิ ใช้ในการตรวจสอบเซลล์อสุจิที่มีลักษณะปกติและผิดปกติกี่เปอร์เซนต์ โดยอาศัยสไลด์ย้อมสีควรใช้กล้อง phase contrast ทำให้เห็นชัดง่ายต่อการประเมิน (กรรณิการ์ ,2542) เซลล์อสุจิ เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของไข่จะมีขนาดเล็กมากกว่าไข่ถึง 1 ใน 100,000 เท่า เนื่องจากไม่มีอาหารสะสม อายุไข่ไม่แน่นอนแล้วแต่ชนิดปลา (สุภาพร,2539)

2. การเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ (sperm motility) สามารถประเมินเปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ ของอสุจิ และระดับการเคลื่อนที่ (กรรณิการ์,2542อ้างตาม Mounib,1998) การประเมินระดับการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิมี 2 วิธี คือ

2.1 การประเมินเป็นเปอร์เซนต์ ซึ่งเป็นวิธีที่ต้องตรวจดูการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิเป็นรายตัวแล้วประเมินเป็นเปอร์เซนต์ โดยสุ่มบริเวณที่อสุจิเคลื่อนที่แล้วประเมินว่า เซลล์อสุจิ 100 ตัว มีการเคลื่อนที่กี่ตัว

2.2 การประเมินเป็นกลุ่ม จะใช้วิธีของ Mounib (1978) และ วิธีของ Billard et. al (1991) โดยแบ่งการเคลื่อนที่เป็น 10 ระดับ โดยระดับที่ 1 หมายถึง เซลล์อสุจิที่มีความอ่อนแอมาก (อสุจิเคลื่อนที่ 0-10%) ระดับที่ 10 หมายถึง เซลล์อสุจิที่มีการเคลื่อนที่มีความปราดเปรียวสูง (90-100%)

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อด้วยการตรวจการเคลื่อนที่ได้ผลไม่ดีนักเนื่องจาก อสุจิของปลาที่นำมาตรวจสอบ ด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมีการเคลื่อนไหวแค่เพียงช่วงสั้นๆเท่านั้น (กรรณิการ์,2542อ้างตาม Williamและคณะ,1985) ปลาดุกอุย มีเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวของอสุจิ 80% ปลาไนมีเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวของอสุจิ 90% (ชนิกา ,2542) อุณหภูมิของน้ำมีผลอย่างมากต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิ ถ้าอุณหภูมิสูงจะทำให้อสุจิมีระยะเวลาในการเคลื่อนไหวน้อยกว่าอุณหภูมิต่ำกว่า เช่น จากการศึกษาการเคลื่อนไหวของอสุจิ ในปลา stergeon ที่อุณหภูมิต่างกันที่ 10,12.5,15 และ 17.5 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิที่10 องศาเซลเซียสมีอัตราการเคลื่อนไหวสูงสุด 65% (มณีรัตน์,2544อ้างตาม Williot et al.,2000)

ศักดิ์ชัย (2538) ปัจจัยที่ก่อให้เกิดการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิในแหล่งน้ำ ได้แก่

1. ภาวะออกซิเจนในน้ำที่สูงกว่าในสภาพที่อยู่ใน seminal fluid
2. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำกระตุ้นการเคลื่อนที่ซึ่งปกติมีค่า 6.7-7.5
3. ปริมาณอิออนของสังกะสี และทองแดงเป็นตัวกระตุ้น เช่นพบในปลาทะเลมีการเคลื่อนที่เร็วและนานกว่าปลาน้ำจืดเพราะในทะเลมีอิออนของสังกะสี และทองแดงเป็นตัวกระตุ้น
4. คุณสมบัติไฮโปโทนิค (Hypotonic) พบในปลาแซลมอนที่อยู่ในน้ำจืด อสุจิจะมีการเคลื่อนไหวน้อยกว่า 2นาที แต่เมื่ออยู่ในน้ำเค็ม 3-6 ppt จะเคลื่อนไหวได้นานขึ้น และใน 10pptมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเคลื่อนไหวนานที่สุดโดยทั่วไปจึงนิยมใช้น้ำเกลือ 0.6 - 0.7%มากระตุ้นการเคลื่อนไหวและยืดอายุอสุจิให้นานขึ้น

3. ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ (sperm concentration) หมายถึง จำนวนเซลล์อสุจิต่อลูกบาศก์เซนติเมตร วิธีการประเมินความเข้มข้นของเซลล์ เช่น การหาค่า spermatocrit หรือการใช้ hemocytometer (direct cell count)

3.1 การหาค่า spermatocrit คือ การหาค่าความหนาแน่นของอสุจิ (packed cell volume x100/total semen volume) แล้วเทียบกลับเป็นจำนวนเซลล์อสุจิต่อหน่วยปริมาตร โดยใช้เส้นกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ

3.2 การใช้ homocytometer เป็นการตรวจนับจำนวนเซลล์อสุจิโดยตรง โดยการใช้ hemocytometer ที่ดัดแปลง มาจากวิธีการนับเซลล์เม็ดเลือด ประกอบด้วยสไลด์ที่มีช่องนับ (coumting chamber) 2 ช่องและไปเปตเจือจางน้ำเชื้อ (dilution pipette) ซึ่งเป็นไปเปตสำหรับนับเซลล์เม็ดเลือด โดยมีอัตราเจือจาง เท่ากับ 1:1200 (ศักดิ์ชัย,2538) มี 2แบบ คือ

3.2.1 Fuchs –Rosenthal hemocytometer จะใช้การสุ่มนับจำนวนเซลล์อสุจิในสี่เหลี่ยมจตุรัสใหญ่เพียงช่องเดียวซึ่งมีปริมาตร 1/5ลูกบาศก์เซนติเมตร สูตร ในการคำนวณดังนี้

* ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ = จำนวนเซลล์อสุจิในสี่เหลี่ยมจตุรัสใหญ่ 1ช่องx50,000xอัตราการเจือจาง

3.2.2 Neubauer hemocytometer ใช้การสุ่มนับเซลล์อสุจิจากสี่เหลี่ยมจตุรัสใหญ่ 5ช่อง มีปริมาตร 1/50ลูกบาศก์เซนติเมตร สูตรดังนี้

* ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ = จำนวนเซลล์อสุจิในสี่เหลี่ยมจตุรัส5 ช่อง x50,000xอัตราการเจือจาง

การเจือจางและเตรียมน้ำเชื้อเพื่อตรวจนับเซลล์อสุจิ ทำได้โดย ดูดน้ำเชื้อถึงขีด 0.5 ของไปเปตแล้วดูดสารละลายเจือจางน้ำเชื้อให้ถึงขีด 101 ของไปเปตแล้วเขย่าไปเปตเพื่อให้น้ำเชื้อเจือจางผสมกันได้ดี หยดน้ำเชื้อที่เจือจางที่ขอบสไลด์ที่มีขอบแผ่นกระจกวางเหนือช่องสไลด์ทิ้งไว้สักครู่ให้เซลล์อสุจิคงที่แล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ (กรรณิการ์,2542อ้างตาม นลินี,2527) ช่วงเวลาในฤดูผสมพันธุ์ มีผลทำให้เกิดความแตกต่างของปริมาตรน้ำเชื้อและความเข้มข้นของอสุจิในปลาตัวเดียวกัน เช่น ปลาเรนโบว์ เทร้าน์ มีปริมาตรน้ำเชื้อและความเข้มข้นของอสุจิสูงในระยะต้นฤดูผสมพันธุ์และคงที่ในเวลาต่อมา (กรรณิการ์,2542 อ้างตาม กฤษณ์,2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เซลล์อสุจิมีชีวิตและไม่มีชีวิต (live and dead sperm) เป็นวิธีการตรวจสอบว่าน้ำเชื้อมีเซลล์อสุจิมีชีวิตและไม่มีชีวิตอยู่กี่เปอร์เซนต์ อาศัยหลักการย้อมสี Eosin-Nigrosin จะพบว่า เซลล์อสุจิที่ตายจะติดสีย้อมคือสี Eosin ส่วนอสุจิมีชีวิตจะไม่ติดสีย้อม โดยมี Nigrosin เป็นสีพื้นสุ่มนับอสุจิมาประมาณ 100เซลล์เพื่อตรวจเซลล์อสุจิมีชีวิตและไม่มีชีวิตแล้วนำมาคิดเป็นเปอร์เซนต์ (ศักดิ์ชัย,2538)

5. การประเมินรูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิ ใช้ในการตรวจสอบเซลล์อสุจิที่มีลักษณะปกติและผิดปกติกี่เปอร์เซนต์ โดยอาศัยสไลด์ย้อมสีควรใช้กล้อง phase contrast ทำให้เห็นชัดง่ายต่อการประเมิน (กรรณิการ์,2542) ทั้งนี้ผู้ปฏิบัติต้องทราบลักษณะปกติของอสุจิปลาแต่ละชนิดเสียก่อน (ศักดิ์ชัย,2538)

การเพาะขยายพันธุ์ปลาดุกอุย

การเพาะพันธุ์ปลาดุกอุย ในปัจจุบันนิยมใช้ การฉีดฮอร์โมนกระตุ้น หลังจากนั้นจึงรีดไข่และ น้ำเชื้อมาผสมเทียม (ภาณุและคณะ,2538 อ้างตาม มานพและคณะ,2528) วิธีที่เหมาะสมในการผสมเทียมปลาดุกอุย คือ วิธีแห้งแบบดัดแปลง (Modified Dry method) คือนำอสุจิผสมกับไข่ในภาชนะแห้งก่อน 1-2นาที แต่ก่อนนำไปฟัก เติมน้ำลงไปเพื่อกระตุ้นให้ไข่ผสมกับน้ำเชื้อ ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วล้างออก เติมน้ำใหม่ และนำไปฟัก (มณีรัตน์,2544 อ้างตาม วีระพงศ์ ,2536) วิธีนี้มีข้อดีคือ น้ำเชื้อไม่ถูกเจือจางมากไป แม้บางครั้งอาจจะไม่ได้เข้าผสมกับไข่ทันที ก็สามารถว่ายเข้าถึงไข่โดยง่าย นอกจากนี้ ยังล้างสิ่งสกปรกที่ติดมากับไข่และน้ำเชื้อได้ ลดปัญหาการขาดออกซิเจนในอุปกรณ์ฟักได้ ใช้ได้ดีกับไข่แบบลอย ครึ่งลอยครึ่งจม และจมติดวัตถุ (มณีรัตน์,2544)

การปฏิสนธิในปลา

ปลาที่ออกลูกเป็นไข่และมีการผสมหรือปฏิสนธิภายนอกตัว เรียกว่า โอวิพารัส (oviparus) ไข่ที่ได้รับการผสม จะใช้อาหารจากถุงไข่ดง (yolk sac) จนกระทั่งอวัยวะต่างๆเจริญครบและฟักออกเป็นตัวอ่อน (larva) พบในปลากระดูกแข็งทั่งไป (สุภาพร,2539) ได้แก่ ปลาดุก ปลาไน ปลาตะเพียน เป็นต้น การปฏิสนธิในปลาแบบนี้อสุจิจะเข้าสู่ไข่ทางรู micropyle โดยสามารถเข้าได้ที่ละตัวเท่านั้น เนื่องจากรู micropyle มีขนาดเล็กและจะปิดเมื่ออสุจิตัวแรกเข้าสู่ไข่ หลังจากนั้นไข่ปลาจะพัฒนาการแบ่งเซลล์พร้อมกับดูดน้ำเข้าไปแทรกระหว่างผนังเปลือกไข่ เกิดช่องว่างเรียกว่า perivitelline space ทำให้ไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น เรียกการดูดน้ำเข้าไปในไข่ว่า water hardening (ศักดิ์ชัย,2538) ไข่ปลาที่แก่ มีความสามารถในการดูดน้ำได้ดีกว่าไข่ที่แก่เกินไปไข่ปลาดุกอุยเมื่อสัมผัสน้ำจะเริ่มเหนียวและติดกับวัตถุ (มณีรัตน์,2544 อ้างตาม อุทัยรัตน์ ,2538)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่มีผลต่อการปฏิสนธิ ได้แก่

1.คุณภาพของน้ำเชื้อ

1.1 จำนวนอสุจิต่อไข่ การปฏิสนธิของอสุจิกับไข่จะมีประสิทธิภาพดีถ้าจำนวนอสุจิมีอัตราส่วนเหมาะสมกับจำนวนไข่ ซึ่งปริมาณของอสุจิจะแตกต่างกันไปตามชนิดปลา (มณีรัตน์ ,2544อ้างตาม กิจจาและคณะ2526) เช่น ปลาไน *Cyprinus carpio* เมื่อนำปริมาณอสุจิสด 1 มิลลิลิตรผสมกับไข่ 1 กรัม มีอัตราปฏิสนธิ 70% แต่เมื่อเพิ่มปริมาตรไข่เป็น 100 กรัมอัตราปฏิสนธิลดลงความสำเร็จของการผสมไข่ปลาไนจะลดลงเมื่อใช้ปริมาณอสุจิต่อไข่ลดลงในไข่ดี การผสมเฉลี่ย 81% จากปริมาณอสุจิ 6×10^4 ถึง2×10^6 ตัวต่อไข่100ml ,การผสมเป็น54% จากการใช้อสุจิ 8×10^3 ถึง 2×10^6 ตัวต่อไข่100ml ถ้าใช้อสุจิ 10^3 ตัวต่อไข่100ml อัตราผสมเท่ากับ 0% ถ้าไข่ไม่ดี อสุจิ 2×10^6 ตัวต่อไข่100ml อัตราผสมเป็น 42% การผสมปกติควรใช้อสุจิอย่างน้อย 6×10^4 หรือ 300ไมโครลิตร/100มิลลิลิตร (เกรียงศักดิ์2540 อ้างตาม Fauvel et.al.,1991) ส่วนในปลา Rainbow trout; *Salmo gairdneri* ใช้สัดส่วน 5-10 $\times 10^6$ ตัว/ฟองให้อัตราปฏิสนธิ 100% (มณีรัตน์2544อ้างตาม Stoss และHoltz,1983) ส่วน Billard et al. (1974) ได้ทดลองใช้ความเข้มข้นอสุจิต่อไข่ต่ำสุดที่ระดับ 2×10^5ตัว/ไข่ได้อัตราปฏิสนธิเป็น 80%ในปลา Rainbow trout แต่ Sequet et al.(1995) สามารถทำให้อัตราปฏิสนธิเพิ่มเป็น 89% เมื่อใช้ความเข้มข้นอสุจิที่ 6×10^3 ตัว/ไข่ในปลา Rainbow trout *(Scopthalmus maximus)*

เกรียงศักดิ์ (2540) ทดลองหาความหนาแน่นของอสุจิปลาไน โดยเปรียบเทียบระหว่าง 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีการฉีดฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง มีปริมาณเซลล์อสุจิเฉลี่ย 14×10^6 ล้านเซลล์/ลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาตรของเหลวทั้งหมดเฉลี่ย 14.2มล./กก. ปริมาณอสุจิต่อของเหลวมีค่าเฉลี่ย 48% ส่วนกลุ่มที่ไม่ฉีดฮอร์โมน มีปริมาณเซลล์อสุจิเฉลี่ย 24×10^6ล้านเซลล์/ลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาตรของเหลวทั้งหมดเฉลี่ย 2.72มล./กก. ปริมาณอสุจิต่อของเหลวมีค่าเฉลี่ย 65% ผลของฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองมีผลต่อปริมาตรและความหนาแน่นของอสุจิสดในกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมนมีมากกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดแต่ฮอร์โมนมีผลแค่ทำให้เกิดของเหลวในพลาสมามากรีดน้ำเชื้อได้ง่ายขึ้นแต่ไม่ทำให้เกิดการสร้างจำนวนอสุจิเพิ่ม ชนิกา (2542) ได้ทดลองในปลาดุกอุยมีเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวของอสุจิ 80%ในความเข้มข้นอสุจิ $4X10^4$,$6 X10^4$,$8 X10^4$ และ$10 X10^4$ ตัว/ฟอง พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิคือ64.58 ,69.50,73.17และ86.33% ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) อัตราการปฏิสนธิที่ใช้ความเข้มข้นของอสุจิ $10 X10^4$ตัว/ฟอง มีค่าสูงที่สุด คือ 86.33%

มณีรัตน์ (2544) ได้ทดลอง ปลาดุกรัสเซียมีอัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิ 90% ในความเข้มข้นของน้ำเชื้อ $4X10^4$, $6 X10^4$,$8 X10^4$ และ$10 X10^4$ ตัว/ฟอง มีอัตราการปฏิสนธิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับไข่ปลาดุกอุยคือ 43.84, 49.69, 50.02 และ46.59% ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) อัตราการปฏิสนธิที่ใช้ความเข้มข้นของอสุจิ $8 X10^4$ ตัว/ฟอง มีค่าสูงที่สุด คือ 50.02%อย่างไรก็ตาม ปลาดุกรัสเซียยังคงมีอัตราปฏิสนธิต่ำกว่าปลาดุกอุยที่ใช้ความเข้มข้นน้ำเชื้อ $4X10^4$ตัว/ฟองมีอัตราปฏิสนธิ 64.58% ปลาไนที่ใช้น้ำเชื้อความเข้มข้น $4X10^4$ตัว/ฟองมีอัตราการปฏิสนธิ 66.54%ซึ่งพบว่า อัตราปฏิสนธิสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของอสุจิ (ชนิกา ,2542) อัตราการปฏิสนธิขิงปลาดุกอุยมีค่าอยู่ในช่วง 68.3±3.6% และปลาดุกอุยมีอัตราการฟัก 50-70% (กฤษณ์,2536อ้างตามตามชนิกา,2542) Fermin et al. (1999) พบว่า อัตราการปฏิสนธิในปลาดุกอุย Asian catfish *(clarias macrocephalus)* มีอัตราการปฏิสนธิสูง

อัตราส่วนอสุจิต่อไข่ที่ต้องการให้อัตราปฏิสนธิสุงที่สุดในปลาหลายสายพันธุ์ Bichler (1882) และ Billard (1978) แนะนำ ให้ใช้ความเข้มข้นอสุจิที่ $10X10^6$ และ $12 X10^6$ ตัว/ไข่ ตามลำดับในปลาตระกูล Salmonids ในขณะที่ Stoss และHoltz (1981), Wheeler และ Thorgaard (1991) ,Billard et al. (1974), Rana และ McAndrew (1989) แนะนำให้ใช้ระดับความเข้มข้นอสุจิที่ $3 X10^6$, $7.6 X10^5$, $2 X10^5$ ตัว/ไข่ ในปลาตระกูลแซลมอน และระดับความเข้มข้นอสุจิต่อไข่ที่ $1.4 X10^5$ ตัว/ไข่500ฟอง ในตระกูลปลานิลมีอัตราปฏิสนธิเป็น 93%ตามลำดับ แต่อัตราส่วนอสุจิต่อไข่ดังกล่าวยังไม่เป็นที่ยอมรับในปลาดุก และ ปลา Blue catfish ซึ่งอัตราส่วนดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Ginzberg (1972) , Hourston และ Rosenthal, (1976) ที่ได้แนะนำอัตราปฏิสนธิสูงที่สุดเมื่อใช้ความหนาแน่นของอสุจิที่ 10^5-10^6 ตัว/มิลลิลิตร ซึ่งการระบุอัตราส่วนอสุจิต่อไข่ที่เหมาะสมกับผลผลิตที่ต้องการ เพื่อเป็นการลดจำนวนเพศผู้ที่ต้องสูญเสียไปในการผสมเทียมแต่ละครั้ง

Bart และ Duham (1995) ได้ทำการทดลองถึงผลของความเข้มข้นของอสุจิและจำนวนของไข่ ต่ออัตราปฏิสนธิในปลาดุก channel catfish (*Ictalurus punctatus)* และปลา Blue catfish (*I. furcatus*) โดยได้ทดลองที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิ/ไข่ที่ $5X10^4$ ถึง $1.2X10^7$ ตัว/ฟอง พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิตั้งแต่ 17-87% ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 65% โดยอัตราปฏิสนธิต่ำที่สุด คือ ที่ความเข้มข้นของอสุจิต่อไข่ที่ $5X10^4$ ตัว/ฟอง มีอัตราปฏิสนธิเพียง 16.6%ที่ ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่า คือที่ $1.2X10^5$ ถึง $1.2X10^8$ ต่อไข่จำนวน 450 , 2,000 , 5,000 , 8,000 และ11,000 ฟอง ซึ่งมีอัตราปฏิสนธิในทำนองเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ซึ่งมีอัตราปฏิสนธิอยู่ระหว่าง 25-67% ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 53%และ ปริมาณไข่มากที่สุด พบว่ามีอัตราปฏิสนธิต่ำสุดที่ ($P<0.05$) ส่วนชุดที่ไข่จำนวน 450 ฟอง พบว่ามีอัตราปฏิสนธิสูงที่สุด คือ 67-87% ค่าเฉลี่ยอัตราการปฏิสนธิของไข่ปลาดุก (channel catfish) ที่ความแตกต่างของจำนวนอสุจิที่มีความหลากหลายสูง (ตารางที่2ภาคผนวก) และมีรายงานว่าหน่วยทดลองที่ใช้จำนวนอสุจิ 50,000 ตัวต่อไข่ พบว่ามีอัตราปฏิสนธิต่ำที่สุด เป็น 17% ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

($P<0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อจำนวนอสุจิต่อไข่เพิ่มขึ้นเป็น 125,000 ตัว/ไข่ พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิคิดเป็น 52% และ ที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิระหว่าง 125,000 และ 250,000 ตัว/ไข่ พบว่าอัตราการปฏิสนธิไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P>0.05$) ดังนั้น อัตราปฏิสนธิสูงสุด คิดเป็น 87% เมื่อใช้ความเข้มข้นอสุจิ $1.2 X10^7$ ตัว/ฟอง และ พบว่าที่ระดับอสุจิ $1.25 X10^5$ ถึง $1.2 X10^7$ ตัว/ฟอง ไม่มีความแตกต่างกันที่ ($P>0.05$)

นอกจากความเข้มข้นของอสุจิแล้ว จำนวนไข่ที่ใช้ในการผสมก็มีผลต่ออัตราการปฏิสนธิ อัตราปฏิสนธิต่ำที่สุด เป็น 25%ที่ ($P<0.05$) เมื่อใช้ไข่ 11,000 ฟอง และอัตราปฏิสนธิสูงที่สุด เป็น 67% เมื่อใช้ไข่ 450ฟอง แต่ไม่มีความแตกต่างของอัตราปฏิสนธิเมื่อใช้ไข่จำนวน 2,000 , 5,000 และ 8,000 ฟองที่ ($P>0.05$) (ตารางที่2ภาคผนวก) Alderson และ MacNeil (1984) ได้รายงานชุดการทดลองที่ใช้ไข่จำนวน 300 –400 ฟองในปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) พบว่า มีอัตราปฏิสนธิสูงที่สุด คือ 90% ซึ่งสูงมากกว่าชุดที่ใช้ไข่ 3,000-5,000ฟอง คิดเป็น 25-58% จากอสุจิแช่แข็ง สอดคล้องกับการทดลองของ Bart และ Duham (1995) ซึ่งทำการทดลองอุตราปฏิสนธิในปลาดุก channel catfish (*Ictalurus punctatus)* และปลา Blue catfish (*I. furcatus*) โดยใช้ไข่จำนวน 450 , 2,000 , 5,000 , 8,000 และ11,000 ฟองที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิ/ไข่ที่ $1.2X10^5$ ถึง $1.2X10^8$ ตัวต่อฟอง พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิตั้งแต่ อัตราปฏิสนธิอยู่ระหว่าง 25-67% ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 53%และ ปริมาณไข่มากที่สุด พบว่ามีอัตราปฏิสนธิต่ำสุดที่ ($P<0.05$) และพบว่า ชุดที่ไข่จำนวน 450 ฟอง ซึ่งมีอัตราปฏิสนธิมีอัตราปฏิสนธิสูงที่สุด คือ 67-87% ส่วนหน่วยทดลองที่ใช้จำนวนอสุจิ 50,000 ตัวต่อไข่ พบว่ามีอัตราปฏิสนธิต่ำที่สุดเป็น 17% ที่ ($P<0.05$) แสดงว่า ยิ่งไข่มีปริมาณสูงอัตราการฟักจะลดน้อยลง

1.2 การเคลื่อนไหวของอสุจิ โดยการวัดเป็นเปอร์เซนต์จากการตรวจสอบหาจำนวนอสุจิที่มีการเคลื่อนไหว ที่มีความสามารถจะเข้าไปผสมกับไข่ ได้ เช่นการประเมินการเคลื่อนไหวของอสุจิได้ 90%จะหมายถึง มีอสุจิจำนวน 90ตัว จาก100 ตัวที่สามารถเข้าผสมกับไข่ได้ (ชนิกา,2542อ้างตามวิทย์,2521) ศักดิ์ชัย (2538) อสุจิปลาเมื่ออยู่ใน seminal fluidและเมื่อรีดได้จะไม่เคลื่อนไหว แต่เมื่ออยู่ในน้ำจะปราดเปรียว เซลล์อสุจิที่ได้รับการกระตุ้นแล้วจะมีชีวิตอยู่ได้ไม่นานมีอัตราเร็วและระยะเวลาในการเคลื่อนไหวแตกต่างกันไปตามชนิดปลา ทัศนีย์ และคณะ (2529) จากการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อปลาบึกแช่แข็งไว้นาน 4 เดือนยังคงมีอัตราการเคลื่อนไหวในระดับ 4-5 และตัวอสุจิที่เคลื่อนไหวได้มีถึง 55-60% ปลาดุกอุยมีเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวของอสุจิ 80% (ชนิกา ,2542) มณีรัตน์ (2544) ปลาดุกรัสเซียมีอัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิที่ 90% ศักดิชัย และสมศักดิ์ (2544) รายงานการทดลองหาอัตราปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาว ปลาไนและปลาดุกอุย โดยใช้น้ำเชื้อที่มีอัตราการเคลื่อนไหว 90,90 และ80% ตามลำดับที่ระดับความเข้มข้นอสุจิต่อไข่ $4X10^4$, $6X10^4$, $8X10^4$และ$10X10^4$ ตัวต่อฟอง พบว่า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาวและในปลาดุกอุยที่ทุกระดับความเข้มข้น มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในปลาไน ความเข้มข้นของอสุจิมีผลต่อการปฏิสนธิ แต่ที่ความเข้มข้นอสุจิที่สูงกว่า$6X10^4$ ตัวต่อฟองให้อัตราการปฏิสนธิไม่แตกต่างกัน Lahnsteiner et al.,(1996) กล่าวว่า การเคลื่อนที่ของอสุจิ, เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหว และ ระยะเวลาในการเคลื่อนที่มีความสำคัญต่อคุณภาพอสุจิ

ส่วน Fermin et.al., (1999) ได้ทำการทดลอง ศึกษาผลจากการกระตุ้นการเคลื่อนที่ของอสุจิในปลาดุกอุย (Asian catfish,*Clarias macrocephalus*;Gunther) พบว่าอัตราปฏิสนธิสูงเป็น 89 –94% เมื่อกระตุ้นด้วย 0.06% NaCl (198.24mOsm/kg) และเจือจางน้ำเชื้อที่ 10 µl โดยเจือจางด้วย 1,000µlASP ผสมกับไข่ 5และ10กรัม พบว่าสามารถนำไปใช้ในการเพิ่มอัตราปฏิสนธิและผลผลิตลูกปลาดุกอุยในโรงเพาะฟักได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่อสุจิปลาและอัตราปฏิสนธิ มีดังนี้

1.2.1 ผลของ pH ต่ออัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ การใช้ pHของ ASP ที่ต่างกันโดยทดลองในอสุจิปลาcatfish ที่ pH (7.0,7.4,7.8, 8.2, 8.6, 9.0และ9.4) พบว่ามีความสัมพันธ์ของเปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูง ในสารละลาย ASP solution ที่ pH 6.4 –9.0 (มีการเคลื่อนที่ 50-75%)มากกว่าที่ pH9.4 (มีการเคลื่อนที่ 25-50%) และระยะเวลาที่เคลื่อนที่สัมพันธ์กับเวลา ในการใช้สารละลาย ASP solution ที่ pH 6.4 (ใช้เวลา3.9นาที) และที่ pH7.8 (ใช้เวลา 2.73นาที) ซึ่งที่ pH ทั้งสองใช้เวลามากกว่า pHอื่นๆที่ทดลอง

หมายเหตุ ASP solution ย่อมาจาก Artificial seminal plasma หรือ ของเหลวที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อการเจือจางน้ำเชื้อ

1.2.2 ผลของอัตราส่วนการเจือจางน้ำเชื้อต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิ ในปลา *Clarias macrocephalus* โดยทดลองใช้อัตราส่วนเจือ จางที่ 1:100 ,1:200, 1:300 ,1:400 ,1:500 และ 1:1000 ที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่า อสุจิปลา catfish ประมาณ 50-75% มีการเคลื่อนที่คล่องแคล่วในน้ำเมื่อทำการเจือจางน้ำเชื้อที่ 1:100 ,1:200 เคลื่อนที่ 2.2 และ1.9นาที ตามลำดับ ส่วนการเจือจางที่อัตราส่วน1:300 ถึง 1:1000 พบว่าส่วนมาก 90% อสุจิปลา catfish มีอัตราการเคลื่อนที่น้อยมากเคลื่อนที่ได้เพียง 10% หรือน้อยกว่านี้ที่เวลา 0.14 – 0.16 นาที

1.2.3 ผลของการเจือจางน้ำเชื้อต่ออัตราปฏิสนธิและอัตราการฟักเมื่อทำการเจือจางน้ำเชื้อที่ 1:10 ,1:50 และ1:100 ต่อไข่ 5และ10กรัม (ตารางที่3ภาคผนวก) พบว่า ที่ ($p<0.01$) อัตราการปฏิสนธิของไข่ปลาcatfish ไม่มีความแตกต่างของไข่ทั้งสองกลุ่ม (5และ10 กรัม) แต่อัตราการฟักจะสูงมากเมื่อใช้ไข่ในกลุ่ม 5กรัม (ปริมาณน้อย) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Bart และ Duham (1995) ที่ทดลอง ในปลา Blue catfish พบว่า ในกลุ่มทดลองที่ใช้ไข่ปริมาณมากอัตราปฏิสนธิจะน้อยลง ซึ่งสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของอสุจิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ Baulny et al. (1999) ได้ทดลองประเมินการเคลื่อนไหวอสุจิของอสุจิที่ถูกแช่แข็ง หลังจากทำการละลายและเจือจาง น้ำเชื้อปลาดุก European catfish พบว่าเปอร์เซนต์การเคลื่อนที่เมื่อแช่แข็งด้วย DMAมีการเคลื่อนที่ของอสุจิ 60%หลังทำการละลาย เมื่อเทียบกับก่อนทำการแช่แข็งซึ่งมีการเคลื่อนที่ 90% อสุจิที่มีเนื้อเยื่อปกติไม่แปรสภาพหลังการแช่แข็งมี 30-90%การแช่แข็งที่ดีที่สุดเมื่อเก็บรักษาด้วย DMA; dimethylacetamide (10และ15%) และmethanol (10และ15%) ที่แนะนำให้แช่แข็งและ มีอัตราการเคลื่อนที่สูงสุดด้วย โดยเวลาที่เคลื่อนที่หลังจากเก็บน้ำเชื้อสด 45วินาที ไม่เปลี่ยนแปลงหลังจากทำการละลายด้วย DMAหรือ Methanol ซึ่งสอดคล้องกับ Viveiros et.al. (2000) ที่แนะนำให้แช่แข็งอสุจิปลา American catfish โดยใช้ DMAหรือ Methanol แต่ Chen et al.(2004) แนะนำการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งปลา Turbot (*Scophthalmus maximus*) มีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเก็บรักษาใน 10% DMSO;dimethyl sulfoxide มีอัตราการปฏิสนธิ (70.1±8.9%) และอัตราการฟัก (46.8±5.2%) ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้น้ำเชื้อสดที่คืออัตราการปฏิสนธิ (74.7±8.0%) และอัตราการฟัก (47.5±6.8%) สอดคล้องกับคำแนะนำของ Alvarez et al. (2003) ที่ว่า การใช้ 10%DMSO ในการเก็บรักษาอสุจิปลาแช่แข็งในปลา Silver carp เหมาะสมมากกว่า การใช้ methanol หรือ glycerol โดย การใช้ 10%DMSO มีอัตราการเคลื่อนที่ดีที่สุดหลังการละลายน้ำเชื้อ อย่างไรก็ตามอสุจิของปลา Branchydanio rerio พบว่ามีประสิทธิภาพการเก็บรักษาโดยวิธีการแช่แข็งโดยใช้ methanol (Alvarez et.al., 2003 อ้างตาม Harvey et al.,1982) สอดคล้องกับ Viveiros et al. (2000) ที่แนะนำว่า methanol เหมาะสมต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแช่แข็งในปลา Zebra fish และเก็บรักษาได้ดีที่สุดในปลา Channel catfish (*Ictalurus puntactus*) และ glycerol มีความเป็นพิษต่ออสุจิของปลา Salmonid จึงควรใช้ DMSOในการเก็บรักษาโดยวิธีแช่แข็ง และ Alvarez et al. (2003) ยังได้รายงานเพิ่มเติมว่า นอกจาก DMSO จะเหมาะสมที่จะใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแช่แข็งในปลา *C. chalcoides* ส่วน glycerol, N-N-dimethyl acetamide และ1,2-propanediol มีความเป็นพิษต่ออสุจิปลาก่อนการแช่แข็ง และ methanol และethylene glycol ไม่มีความเป็นพิษแต่กลับให้ผลล้มเหลวในการป้องกันรักษาเซลล์อสุจิก่อนการแช่แข็งและการละลาย

อุณหภูมิที่ใช้ในการละลายน้ำเชื้อปลา ในปลา *H.molitrix* ทำการละลายที่ 30 องศาเซลเซียส ส่วนปลา Cyprinid มีความหลากหลายของอุณหภูมิที่ใช้ โดยในปลา *C.carpio*ใช้ที่ 30หรือ40องศาเซลเซียส และ *C.chalcoides*ใช้ 25 องศาเซลเซียสในการละลายน้ำเชื้อปลา (Alvarez et al., 2003 อ้างตามBabiak et.al.,1995;Aagyaryal.,1996;Lahnsteiner et al.,2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลอง Baulny et al. (1999) จะเห็นว่า อสุจิมีการสูญเสียพลังงาน ATPไประหว่างที่อสุจิปลาเคลื่อนที่ทั้งระหว่างทำการแช่แข็งและละลาย โดยพบว่าการใช้ DMAในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุก European catfish เป็นวิธีดีที่สุด โดยมีการเพิ่มขึ้นของระดับพลังงานในตัวอสุจิ (เสียพลังงานน้อยลง) ในกรณีปลาดุก Channel catfish (*Ictalurus punctatus)* พบว่า DMAมีความเป็นพิษมากกว่าและประสิทธิภาพน้อยกว่า methanol มาก และจากการทดลองของ Lahnsteiner et al. (2003) การปฏิสนธิของไข่ปลา Cyprinid ที่ใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง โดยวิธีการผสมเทียมแบบเปียกมีอัตราการฟักต่ำมากและหยุดพัฒนาหลังระยะ molular พบว่ามีความผิดปกติอาจเกิดจากการที่มีน้ำปนไปในขณะที่ทำการแช่แข็งทำให้เซลล์อสุจิถูกทำลาย เป็นสาเหตุให้อัตราปฏิสนธิลดลง และตัวกลางที่ใช้ในการเจือจางมีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิที่จะส่งผลต่ออัตราการปฏิสนธิ

1.3 อายุของอสุจิ

Viveiros et al. (2000) แนะนำให้เก็บรักษาอสุจิแช่แข็งที่ –196 องศาเซลเซียสในไนโตรเจนเหลว (LN_2) พบว่ามี อัตราการปฏิสนธิที่ดีในปลา catfish ,American catfish (*Clarias gariepinus*) โดย สามารถเก็บได้นานถึง 6 สัปดาห์ และ 16เดือน (1ปี 4เดือน) และจากการทดลองของ Steyn และVanVuren (1987) พบว่า ปลาดุก African catfish (*H.longifilis*) สามารถใช้น้ำเชื้อแช่แข็งที่เก็บรักษาไว้ 8 เดือน มีอัตราการปฏิสนธิเท่ากับน้ำเชื้อสด ส่วนในปลาดุก channel catfish สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยการแช่แข็งได้นาน 13 เดือน และ ชนิกา (2542) อ้างตาม Kurokura et al. (1984) รายงานว่า จากการทดลองผสมพันธุ์ปลาไน *Cyprinus carpio* โดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งอายุ 342 วัน ผสมกับไข่ในสัดส่วน ไข่ 5กรัมต่อน้ำเชื้อ 1 มิลลิลิตร และใช้น้ำเชื้อแช่แข็งที่ 0,1,5และ10นาที ที่เก็บในสารละลาย DMSO เปรียบเทียบกับ DMSO+BSA 5 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 1 นาที อัตราการปฏิสนธิลดลงโดยในสารละลาย DMSO อัตราปฏิสนธิลดลงจาก 80% เหลือเพียง40% ส่วนสารละลาย DMSO+BSA อัตราปฏิสนธิลดลงจาก 75% เหลือเพียง 60% และที่ 8 นาที อัตราปฏิสนธิต่ำกว่า 5% ทั้ง2 สารละลาย ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า หลังจากการละลายน้ำเชื้อแล้วเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นอัตราการปฏิสนธิจะลดลง

2. คุณภาพของไข่

จากการทดลองศึกษาอัตราการผสมของไข่ปลาไน พบว่าไข่ดีมีอัตราการผสมติดเฉลี่ยดีกว่าไข่ปลาที่ไม่ดี (เกรียงศักดิ์,2540อ้างตาม Fauvel et al.,1991) อัตราการปฏิสนธิในปลาดุกรัสเซียและปลาดุกอุยมีค่าสูงสุดเพียง 50.02% น่าจะเกิดจากคุณสมบัติของไข่ที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการผสมเทียม เนื่องจากเป็นไข่ที่ยังไม่สุกเต็มที่และบางส่วนเกาะกันเป็นแพจึงไม่เกิดการปฏิสนธิ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

99641

(มณีรัตน์,2544) หรือไข่อาจแก่เกินไป คือไม่รีดเมื่อไข่สุกไข่อาจะแก่เกินไปจนเสียและไม่สามารถผสมได้ (มณีรัตน์,2544อ้างตามอุทัยรัตน์ ,2531)

คุณภาพของไข่ที่ใช้มีผลต่อความสำเร็จในการปฏิสนธิ หรือ fertilization success โดยที่ Suquet และ Billard et al. (1995) ได้ทดลอง ในปลา turbot (*Scophthalmus maximus*) ใช้ชุดที่ไข่คุณภาพสูง (ค่าเฉลี่ยความสามารถ 89.6%) พบว่า อัตราส่วน FSสูงที่สุดเมื่ออสุจิที่ $6X10^3$ ตัว/ฟอง (58.4-93.9%) ส่วนในอัตราส่วนต่ำที่สุด FSลดลงและมีความผันแปรสูง และในชุดที่ใช้ไข่คุณภาพต่ำ (ค่าเฉลี่ยความสามารถ 72 –75.9%) เมื่ออัตราส่วนของอสุจิต่อไข่สูง FSมีความผันแปรสูง และอัตราส่วนที่ $1.5X10^3$ ตัว/ฟอง (27.6 - 89.9%) พบว่า FS สูงที่สุด ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาระหว่างการแพร่กระจายและการเข้ารวมกันของเซลล์สืบพันธุ์ ส่วนใหญ่ภายหลังการผสม 2-3นาที สำหรับ อัตราส่วนอสุจิต่อไข่ที่ $6X10^3$ ตัว/ฟอง มี FS สูงที่สุด หลังการเข้ารวมกันของเซลล์สืบพันธุ์ 1 นาที ในการผลิตเพื่อการค้า อัตราส่วนอสุจิที่ใช้น้อยที่สุด คือ ที่ $6X10^3$ ตัว/ฟอง และระยะเวลาที่ใช้ในการรวมตัวกันของเซลล์สืบพันธุ์ คือ 3นาที สำหรับการใช้น้ำเชื้อผสมเทียมกับไข่ปลา turbot

2.1 จำนวนไข่ต่ออสุจิที่มีผลต่ออัตราการปฏิสนธิ

นอกจากความเข้มข้นของอสุจิและคุณภาพไข่ที่ดีแล้ว จำนวนไข่ที่ใช้ในการผสมก็มีผลต่ออัตราการปฏิสนธิ Bart และ Duham (1995) ได้ทำการทดลองถึงผลของความเข้มข้นของอสุจิและจำนวนของไข่ ต่ออัตราปฏิสนธิในปลาดุก channel catfish (*Ictalurus punctatus)* และปลา Blue catfish (*I. furcatus*) โดยได้ทดลองที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิ/ไข่ที่ $5X10^4$ ถึง $1.2X10^7$ ตัว/ฟอง พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิตั้งแต่ 17-87% ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 65% โดยอัตราปฏิสนธิต่ำที่สุด คือ ที่ความเข้มข้นของอสุจิต่อไข่ที่ $5X10^4$ ตัว/ฟอง มีอัตราปฏิสนธิเพียง 16.6%ที่ ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่า คือที่ $1.2X10^5$ ถึง $1.2X10^8$ ต่อ อัตราปฏิสนธิต่ำที่สุด เป็น 25%ที่ ($P<0.05$) เมื่อใช้ไข่ 11,000 ฟอง และอัตราปฏิสนธิสูงที่สุด เป็น 67% เมื่อใช้ไข่ 450 ฟอง แต่ไม่มีความแตกต่างของอัตราปฏิสนธิเมื่อใช้ไข่จำนวน 2,000 , 5,000 และ 8,000 ฟองที่ ($P>0.05$) (ตารางที่2ภาคผนวก) Alderson และ MacNeil (1984) ได้รายงานชุดการทดลองที่ใช้ไข่จำนวน 300 –400 ฟองในปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) พบว่า มีอัตราปฏิสนธิสูงที่สุด คือ 90% ซึ่งสูงมากกว่าชุดที่ใช้ไข่ 3,000-5,000ฟอง คิดเป็น 25-58% จากอสุจิแช่แข็ง สอดคล้องกับการทดลองของ Bart และ Duham (1995) ซึ่งทำการทดลองอัตราปฏิสนธิในปลาดุก channel catfish (*Ictalurus punctatus)* และปลา Blue catfish (*I. furcatus*) โดยใช้ไข่จำนวน 450 , 2,000 , 5,000 , 8,000 และ11,000 ฟองที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิ/ไข่ที่ $1.2X10^5$ ถึง $1.2X10^8$ ตัวต่อฟอง พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิตั้งแต่ อัตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิสนธิอยู่ระหว่าง 25-67% ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 53%และ ปริมาณไข่มากที่สุด พบว่ามีอัตราปฏิสนธิต่ำสุดที่ ($P<0.05$) และพบว่า ชุดที่ไข่จำนวน 450 ฟอง ซึ่งมีอัตราปฏิสนธิมีอัตราปฏิสนธิสูงที่สุด คือ 67-87% ส่วนหน่วยทดลองที่ใช้จำนวนอสุจิ 50,000 ตัวต่อไข่ พบว่ามีอัตราปฏิสนธิต่ำที่สุดเป็น 17% ที่ ($P<0.05$) อย่างไรก็ แสดงว่า ยิ่งไข่มีปริมาณสูงอัตราการฟักจะลดน้อยลง

สูตรคำนวณอัตราปฏิสนธิและอัตราฟัก (Unuma and Kondo et.al., 2004)

$$\text{อัตราการปฏิสนธิ (Fertilization rate)} = \frac{\text{จำนวนไข่ที่ได้รับการผสมกับอสุจิ X100}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมดที่ใช้ผสมกับอสุจิ}}$$

$$\text{อัตราการฟักเป็นตัว (Hatching rate)} = \frac{\text{จำนวนไข่ที่ฟักเป็นตัวอ่อน X100}}{\text{จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ}}$$

หรือ สูตรอัตราการฟักเป็นตัวของ Silva et al. (2003)

$$\text{อัตราการฟัก(H)} = \frac{\text{(จำนวนไข่ที่ฟัก – จำนวนไข่เสีย) X100}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมด}}$$

3. ตัวกลางที่ใช้ในการเจือจางน้ำเชื้อ

ถ้าตัวกลางมีความเข้มข้นไม่เท่ากับความเข้มข้นของอสุจิ จะเป็นกากระตุ้นให้อสุจิเกิดการเคลื่อนไหวและตายน้อยลง (ชนิกา,2542 อ้างตาม Kurokura et.al.,1984) นอกจากนี้การเจือจางน้ำเชื้อยังส่งผลต่อคุณสมบัติอื่นๆ เช่น pH โดยการเจือจางน้ำเชื้อในปลา rainbow trout;*Salmo gairdneri* ทำให้ pHเพิ่มขึ้นและจากการศึกษาถึงผลของ pHที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากการเจือจางต่ออัตราการปฏิสนธิพบว่า ช่วงpH5.5-7 มีอัตราการปฏิสนธิต่ำ และจะมีอัตราการปฏิสนธิมากขึ้นเมื่อ pHสูงขึ้น แต่พบว่าที่ pH7-8 มีการลดลงของอัตราการปฏิสนธิซึ่งไม่สามารถอธิบายได้ และที่ pH 8.5การลดลงของอัตราการปฏิสนธิต่ำมากไม่สามารถอธิบายได้เช่นกัน (ชนิกา,2542 อ้างตาม Stoss and Holtz.,1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. วิธีการที่ใช้ในการผสมเทียม

เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่ออัตราการปฏิสนธิ โดย Dunham et al. (1995) ได้ทำการทดลองวิธีผสมพันธุ์ในปลาดุกอุยทั้ง 3 แบบ (ชนิกา,2544) ดังนี้

4.1 Drip method โดยนำไข่ที่อยู่ใน Hank's solution มาใส่ในชามแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำอยู่สูง 5-7เซนติเมตร ให้ไข่เรียงกันเป็นชั้นที่1 แล้วหยดน้ำเชื้อลงไปเล็กน้อย แล้วเทไข่ลงไปในชามให้เกิดเป็นไข่ชั้นที่ 2แล้วหยดน้ำเชื้อลงไปทำอย่างนี้ไปเรื่อยๆจนเป็นไปตามต้องการจึงนำไปฟัก

4.2 Mix method จะใช้ Hank's solutionในการยืดอายุไข่และน้ำเชื้อและป้องกันไม่ให้ไข่ติดภาชนะ การผสมทำโดยผสมน้ำเชื้อกับ Hank's solution ส่วนไข่จะรีดลงใน Hank's solution จากนั้นก็เอาน้ำเชื้อผสมกับไข่ แล้วเติมน้ำลงไป 3-4เท่าของปริมาณไข่ด้วยการเทน้ำลงไปช้าๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ5นาที โดยไม่มีการเขย่า แต่ถ้ามีไข่ปริมาณมากให้เขย่าเบาๆ

4.3 Decanted method ทำโดยรีดน้ำเชื้อสดจากอัณฑะผสมลงในไข่ที่อยู่ใน Hank's solution แล้วเติมน้ำลงไป 3-4เท่าของปริมาณไข่

จากการทดลองนี้ สรุปว่า Mix method และDecanted methid มีอัตราการปฏิสนธิไม่แตกต่างกันแต่ให้ผลดีกว่า Drip method (ชนิกา,2544)

ขั้นตอนการพัฒนาคัพภะของปลาดุกอุย

ภาณุและคณะ (2538) การพัฒนาคัพภะของปลาดุกอุย เริ่มตั้งแต่ไข่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อจนกระทั่งฟักออกเป็นตัว จากการศึกษาพบว่า ไข่ปลาดุกอุยมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.66 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิน้ำ 29-32 องศาเซลเซียส จึงฟักออกจากไข่ ใช้เวลาประมาณ24 ชั่วโมง20นาที ขั้นตอนการพัฒนาคัพภะของปลาดุกอุย มีดังนี้

1. Cleavage stage เป็นระยะแรกของการพัฒนาคัพภะ เกิดการแบ่งเซลล์แบบ mitosis เพิ่มจำนวนเซลล์โดยจะเกิดขึ้นเฉพาะบริเวณ animal pole การแบ่งเซลล์ในระยะนี้ไม่มีการสังเคราะห์ไซโตพลาซึม ดังนั้นในขณะที่มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นขนาดเซลล์จะลดลงเรื่อยๆ เรียกแต่ละเซลล์ว่า blastomere เมื่อสิ้นสุดระยะนี้ได้คัพภะอยู่ในระยะ morula ซึ่งกลุ่มเซลล์นี้มีลักษณะคล้ายจานคลุมอยู่เหนือ yolk

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20546

2. Blastula stage ระยะนี้กลุ่มเซลล์ blastomere หรือที่เรียกว่า blastoderm (blastodisc) มีการจัดตัวเป็น blastoderm ชั้นบน และ blastoderm ที่อยู่ชิดกับส่วน yolk เรียกว่าชั้น periblast ทำให้เกิดช่องว่างภายในคัพภะ เรียกช่องว่างนี้ว่า blastocoel ในระยะนี้ยังคงมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนอยู่ และ blastoderm เริ่มเคลื่อนลงมาคลุม yolk

3. Gastrula stage ในระยะนี้ขอบของ blastoderm หนาขึ้นโดยรอบ เกิดเป็นลักษณะคล้ายวงแหวนล้อมรอบ yolk เรียกว่า germ ring blastodermมีการม้วนตัวเข้าไปใน blastocoel ทาง blastopore และในระยะนี้เกิด embryonic shield ซึ่งเป็นบริเวณที่จะเป็นหางของคัพภะ โดยบริเวณนี้มีเซลล์รวมกันหนาแน่นเหนือ germ ring นอกจากนี้ ในขณะที่ blastodermมีการม้วนตัวก็มีการขยายตัวของ blastoderm ลงมาคลุมจนกระทั่งส่วนของ yolk ถูกคลุมเกือบหมด เหลือเพียงบริเวณแคบๆเท่านั้น เรียกบริเวณนั้นว่า yolk plug และสิ้นสุดระยะนี้เมื่อ blastoporeปิด

4. Early embryo เป็นระยะตัวอ่อนระยะแรกๆ ตัวอ่อนมีพัฒนาเกิดการคอดที่บริเวณส่วนหัวและหาง มีการกำเนิด neural tube ช่องทางเดินอาหาร somite และมีการพัฒนาของอวัยวะต่างๆ เช่นสมอง และoptic vesicle เป็นต้น

5. Late embryo ในระยะนี้ตัวอ่อนมีการพัฒนารูปร่างและอวัยวะ หัวใจเริ่มทำงาน ตัวอ่อนมีการเคลื่อนไหวพร้อมที่จะออกจากไข่

6. Embryo เป็นระยะที่ลูกปลามีพัฒนาการขั้นสุดท้าย ลูกปลามีถุงไข่แดง (yolk sac) ชัดเจนส่วนของหางแยกเป็นอิสระจากถุงไข่แดงสามารถว่ายน้ำได้ทันที

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการฟักเป็นตัวของไข่ปลา (สุภาพร ,2539) มีดังนี้

1. อุณหภูมิ อุณหภูมิของน้ำมีความสำคัญมากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมากอาจทำให้ไข่ฝ่อและฟักเป็นตัวไม่ได้ โดยปกตินำ้ที่มีอุณหภูมิสูงขึ้นทำให้ไข่ฟักออกเป็นตัวเร็วกว่าปกติ แต่ถ้าเร็วเกินไปลูกปลาอาจไม่แข็งแรงอัตรารอดต่ำ ถ้าอุณหภูมิลดต่ำลง การฟักจะใช้เวลานานขึ้น ในการเพาะเลี้ยงจึงควรปลี่ยนแปลงอุณหภูมิช้าๆ เช่น การทดลองในปลาเทร้าส์ ที่อุณหภูมิ 37องศาฟาเรนไฮน์ ระยะเวลาในการฟักเป็น 165ชั่วโมง , อุณหภูมิ 41 องศาฟาเรนไฮน์ ระยะเวลาในการฟักเป็น 103ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 50องศาฟาเรนไฮน์ ระยะเวลาในการฟักเป็น 47ชั่วโมง (สุภาพร,2539)

2. แสงสว่าง ไข่ปลาที่ฟักตัวในที่มืดใช้ระยะเวลานานกว่าในที่สว่าง

3. คุณภาพน้ำ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ

3.1 ความเค็ม ถ้าความเค็มไม่เหมาะสมไข่ปลาจะไม่ฟักตัว ถ้าความเค็มเปลี่ยนแปลงขณะไข่ปลากำลังฟักตัว การเจริญของไข่ปลาอาจหยุดชะงักและตายในที่สุด

3.2 ก๊าซที่ละลายในน้ำ ออกซิเจนมีความสำคัญต่อการพัฒนาการของไข่ปลา ในปริมาณที่เหมาะสม คือ 4-12ppm ถ้าน้อยกว่านี้อัตราการฟักจะต่ำ อัตราการตายสูง เช่น แอมโมเนีย มากเกินไปไข่ปลาอาจหยุดฟักและตาย

3.3 ความเป็นกรดและด่างของน้ำ (pH) โดย จิรชัยและคณะ (2543) ศึกษาผลของความเป็นกรดของน้ำต่ออัตราการฟักไข่ในปลาดุกอุย พบว่าที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดสำหรับการฟักไข่ปลาดุกอุย คือ pH 5.2 และอัตราการฟักในปลาดุกอุยเป็น 0% ที่ระดับ pH $\leq$4.6 และอัตราการฟักเป็น0% ในปลาดุกเทศเมื่อน้ำมี pH $\leq$ 4.5 และพบว่า เมื่อpHเพิ่มขึ้นจะมีอัตราการฟักไข่เพิ่มขึ้นจนถึงระดับ pH 5.2 จะพบว่าอัตราการฟักไข่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)กับกลุ่มควบคุม ดังนั้นระดับ pH 5.2 จึงเหมาะสมกับการฟักไข่ ปลาดุกอุย ปลาดุกเทศ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ keinanen et al. (2003) ที่แนะนำให้ใช้ pH >5.5 ในปลา Whitefish เพื่อป้องกันความเป็นพิษของAl ซึ่งสนับสนุนกับบทสรุปของ Peterson et al.(1982) ที่ว่า การปฏิสนธิของปลาหลายสายพันธุ์ส่วนมากล้มเหลวที่ pH <4.0 และพบว่าที่ pH 5.0 จะไม่มีการลดลงของอัตราการปฏิสนธิเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในปลา Atlantic salmonแต่ในทางตรงกันข้ามอัตราการปฏิสนธิในปลา Whitefish ลดลง

นอกจาก ปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้น ความเข้มข้นของไอออนที่สำคัญ อย่างเช่น แคลเซียม (Ca^+) และ แมกนีเซียม (Mg^+) ก็เป็นไอออนสำคัญสำหรับปลาน้ำจืด เพราะ ไอออนทั้ง 2 ชนิด สามารถซึมผ่านเนื้อเยื่อผ่านเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตเข้าไปได้ โดย Silva et al. (2003) ได้ศึกษาทดลองหาอัตราการฟักเป็นตัวของไข่ปลา Silver catfish ,*Rhamdia quelen* (Pimelodidae) ที่ความเข้มข้นของแคลเซียม (Ca^+) และ แมกนีเซียม (Mg^+) ที่ต่างกัน โดยใช้ความแตกต่างของ Ca^+ และMg^+ ที่ 70 –150mg/l ที่ 24องศาเซลเซียส พบว่า ที่ระดับ $CaCO_3$ ที่ 70 mg/l ทั้ง Ca^+ และMg^+ จะปรับปรุงอัตราการฟักเป็นตัวของไข่เพิ่มขึ้น แต่ระดับCa^+ ที่เพิ่มปริมาณสูงทำให้อัตราการรอดตายหลังการฟักลดลง และ การฟักไข่ในน้ำที่มีปริมาณ $CaCO_3$ ที่เกิน 150 mg/l ทำให้อัตราการฟักเป็นตัวต่ำและอัตราการรอดตายหลังการฟักลดลงจาก การเพิ่มขึ้นของระดับ Ca^- ที่สูงกว่า 20 mg/l ทำให้เกิดน้ำกระด้างซึ่งไม่เหมาะสมกับการฟักไข่ของ ปลา Silver catfish.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พ่อ-แม่พันธุ์ ปลาดุกอุย ใช้พ่อพันธุ์จำนวน 4 ตัวและ แม่พันธุ์จำนวน 4 ตัว ตามลำดับ
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเทียม
   - 2.1 ชุดเครื่องมือผ่าตัด และเข็มฉีดยา
   - 2.2 ฮอร์โมนผสมเทียม (Motilium และ Suprefect)
   - 2.3 น้ำเกลือ 0.9%
   - 2.4 ผ้าขาวบาง
   - 2.5 กะละมังเคลือบ
   - 2.6 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดชั่งได้ละเอียด ทศนิยม 4ตำแหน่ง
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการหาความเข้มข้นของอสุจิและตรวจสอบการเคลื่อนไหว
   - 3.1 กล้องจุลทรรศน์
   - 3.2 Slide และ Cover slide
   - 3.3 Dilution pipet
   - 3.4 Hemacytometer
   - 3.6 กระดาษลิตมัส
   - 3.7 ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. อุปกรณ์ในการตรวจสอบการปฏิสนธิ
   - 4.1 กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำที่สามารถต่อสัญญาณภาพเข้าวงจรโทรทัศน์ได้
   - 4.2 เครื่องมือช่วยบันทึกการนับจำนวนไข่ที่ปฏิสนธิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completety Randomized Design) โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ใช้ความเข้มข้นของอสุจิ 150×10^6 ตัวต่อไข่300ฟอง หรือ $50X10^4$ ตัวต่อฟอง

กลุ่มที่ 2 ใช้ความเข้มข้นของอสุจิ 300×10^6 ตัวต่อไข่300ฟอง หรือ $1X10^6$ ตัวต่อฟอง

กลุ่มที่ 3 ใช้ความเข้มข้นของอสุจิ 450×10^6 ตัวต่อไข่300ฟอง หรือ $150X10^4$ ตัวต่อฟอง

นำน้ำเชื้อแต่ละกลุ่ม ไปผสมกับไข่ปลาจากแม่ปลา 4 ตัว โดยแต่ละกลุ่มให้อสุจิเข้าปฏิสนธิกับไข่จำนวน 300 ฟอง กลุ่มละ4ซ้ำ

วิธีการทดลอง

1. ขั้นตอนการเตรียมพ่อแม่พันธุ์

ชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวของปลาดุกอุยเพศผู้และเพศเมียแต่ละตัว ฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ ให้แก่ แม่ปลาดุกอุย 2 ครั้ง โดยครั้งที่1ใช้ อัตราส่วนของฮอร์โมนสังเคราะห์ suprefect 10 ไมโครกรัมต่อปลา1kg ผสมกับ motilium 5 มิลลิกรัมต่อปลา 1กิโลกรัม จากนั้นห่างจากการฉีดครั้งที่แรก เป็นเวลา 6 ชั่งโมงจึงฉีดฮอร์โมนครั้งที่2แก่พ่อแม่ปลา ซึ่งในการฉีดฮอร์โมนครั้งที่2ให้แม่ปลา และฉีดฮอร์โมนกระตุ้นความสมบรูณ์ของน้ำเชื้อให้แก่พ่อปลาดุกอุยเพียงครั้งเดียวโดยฉีดพร้อมกับการฉีดให้แม่ปลาในความเข้มข้นเดียวกันคือใช้ suprefect 10 ไมโครกรัมต่อปลา1kg ผสมกับ motilium 5 มิลลิกรัมต่อปลา 1กิโลกรัมแล้วพักไว้ 8 –11ชั่วโมงจึงนำมารีดไข่

2. ขั้นตอนการเตรียมน้ำเชื้อปลา

2.1 ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของพ่อพันธุ์

2.2 รีดน้ำเชื้อปลาดุกอุย ซึ่งน้ำเชื้อน้อยต้องผ่าเอา testis ออกมา ห่อด้วยผ้ากรองล้างเลือดด้วยน้ำเกลือ 0.9% จากนั้นบีบ testis จากพ่อปลาด้วยผ้ากรองใส่ในชามเคลือบ เติมน้ำเกลือ 5 ml นำไปใส่หลอดทดลองขนาด 15 ml จากนั้นเติมน้ำเกลือ 0.9% จนได้ปริมาตร 15 ml

2.3 นับเซลล์อสุจิมีชีวิตและไม่มีชีวิต โดยการย้อมสี (Eosin –Nigrosin) ซึ่งประกอบด้วยEosin B : 1กรัม และ Nigrosin :5กรัม ละลายในโซเดียมซิเตรตไดไฮเดรท 2.9%ในการย้อมสี ทำได้โดยหยดสีย้อม 1-2 หยด บนแผ่นกระจกสไลด์ที่สะอาดแล้วหยดน้ำเชื้อลงบนสีย้อมผสมให้เข้ากัน ใช้แผ่นกระจกสไลด์อีกแผ่นลากให้เกิดฟิลม์บางๆ และทำให้แห้งโดยเร็วโดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตะเกียง แอลกอล์ เมื่อนำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่าเซลล์อสุจิที่มีชีวิตจะไม่ติดสีย้อม แต่เซลล์อสุจิที่ไม่มีชีวิตจะติดสีย้อม

2.4 ตรวจดูรูปร่างลักษณะว่าเซลล์อสุจิผิดปกติหรือไม่นำน้ำเชื้อที่ได้ไป หาอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิโดยวิธีการสุ่มของ Suquet et al. (1992) โดยประเมินด้วยกล้อง phase contrast จากนั้นสุ่มเซลล์อสุจิประมาณ 100 เซลล์ มานับจำนวนเซลล์อสุจิมีชีวิตและไม่มีชีวิต โดยการย้อมสี (Eosin –Nigrosin) 3ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ยนำมาคิดเป็นเปอร์เซนต์ได้

2.5 ตรวจหาความเข้มข้นของอสุจิโดยวิธีการของ Liang (1979) และSorensen (1979) โดยวิธีการนับจำนวนเซลล์อสุจิจากการใ ช้ Fuchs-Rosent Hemacytometer ซึ่งจะสุ่มนับจำนวนเซลล์อสุจิในสี่เหลี่ยมจตุรัสใหญ่เพียง 1ช่อง

2.6 นำค่าที่ได้จากการนับมาหาความเข้มข้นของอสุจิต่อ1 ml เจือจางน้ำเชื้อ 3 ระดับ คือ 150 $X10^6$,300 $X10^6$,450 $X10^6$ ต่อไข่ 300ฟอง

3. ขั้นตอนการเตรียมไข่ปลา

3.1 ชั่งน้ำหนักของไข่ปลาดุกอุยที่รีดได้จากปลาเพศเมียแต่ละตัว

3.2 ชั่งไข่ประมาณ 1 กรัมแล้วนับจำนวนไข่เพื่อคำนวณหาค่าเฉลี่ยต่อฟองของไข่ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.3 คำนวณหาน้ำหนักไข่ปลา 300 ฟอง

3.4 ชั่งไข่ปลาให้ได้ตามน้ำหนักเฉลี่ยที่มีไข่ปลาประมาณ 300 ฟอง

4. ขั้นตอนตรวจสอบการปฏิสนธิ

ตรวจสอบการปฏิสนธิหลังการผสมกับไข่ ประมาณ 22 ชั่วโมง โดยนำมาตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำแสดงภาพทางจอโทรทัศน์ โดยจะพบว่าไข่ที่มีการปฏิสนธิจะมีการแบ่งเซลล์เพื่อเจริญเป็นตัวอ่อน ส่วนไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิจะไม่มีการแบ่งเซลล์เพื่อเจริญเป็นตัวอ่อน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกน้ำหนักและความยาวตลอดลำตัวของพ่อ-แม่พันธุ์ปลา ,การเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิ (sperm motility) , ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ (sperm concentration) และ อัตราการปฏิ-สนธิ (fertilization rate)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ หาความแปรปรวนของอัตราการปฏิสนธิในปลาดุกอุย (Walking Catfish; *Clarias macrocephalus*) ด้วยวิธี Analysis of Variance และหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Duncan 's Multiple Range Test

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการผสมเทียม และ โรงเพาะขยายพันธุ์สัตว์น้ำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

ระยะเวลาในการทดลอง

กรกฎาคม - สิงหาคม พ.ศ. 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

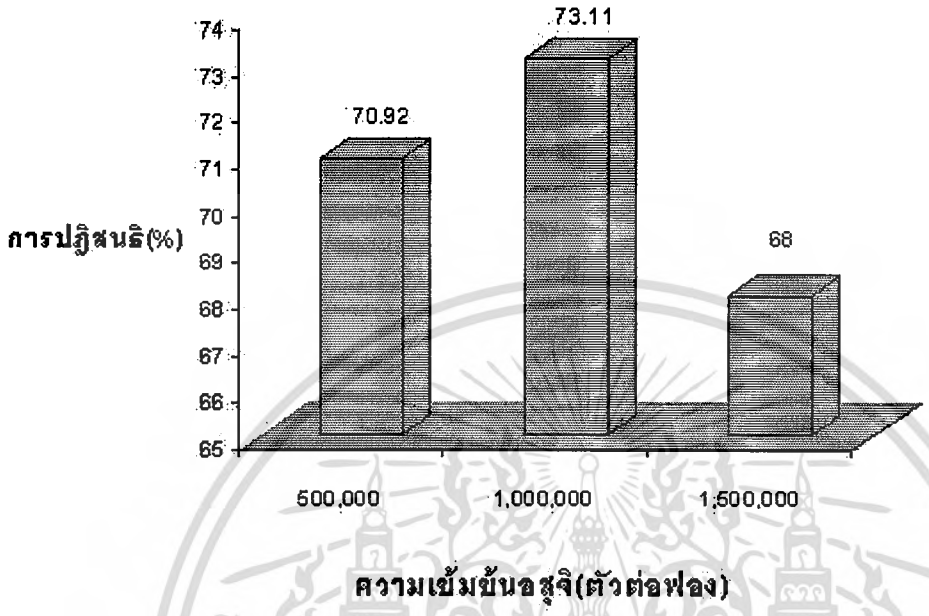
การปฏิสนธิในปลาดุกอุย

จากการทดลองผสมน้ำเชื้อกับไข่ปลาดุกอุย โดยใช้น้ำเชื้อที่มีการเคลื่อนไหว 50 เปอร์เซนต์ ที่ระดับความเข้มข้นอสุจิ $50x10^4$, $1x10^6$ และ $150x10^4$ ตัวต่อฟอง พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิ คือ 70.92 , 73.11, 68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่1,ตารางที่ 1) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางผนวกที่6) และพบว่า อัตราการปฏิสนธิสูงที่สุดในหน่วยทดลองที่ใช้ความเข้มข้นอสุจิ $1x10^6$ ตัวต่อฟองมีอัตราการปฏิสนธิ 73.11 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ การทดลองของ Bart และ Duhan (1995) ที่ทดลองในปลาดุก channel catfish ที่ระดับความเข้มข้นอสุจิตั้งแต่ $5 x10^4$ - $1.2 x10^7$ ตัวต่อฟองซึ่งมีอัตราปฏิสนธิตั้งแต่ 17-87% และรายงานของ Ginzberg (1972) ,Hourstonและ Rosenthal (1976) ที่แนะนำ ให้ใช้ความหนาแน่นอสุจิที่ 10^5-10^6ตัว/มิลลิลิตร ที่จะทำให้มีอัตราปฏิสนธิสูงที่สุดในการผสมเทียม และชนิกา (2544) อ้างตามกฤษณ์ (2536) ได้รายงานไว้ว่า อัตราการปฏิสนธิของปลาดุกอุยอยู่ในช่วง 68.3±3.6 เปอร์เซ็นต์ และปลาดุกอุยมีอัตราการฟัก 50-70เปอร์เซ็นต์ (Puna et al., 1996) จากการทดลองครั้งนี้ในสองหน่วยทดลองแรกที่ใช้ความเข้มข้นอสุจิ $50x10^4$ และ $1x10^6$ ตัวต่อฟอง พบว่ามีอัตราการปฏิสนธิสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของอสุจิที่สูงขึ้น (70.92และ 73.11เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่ในหน่วยทดลองที่ใช้ความเข้มข้นอสุจิสูงสุด $150x10^4$ ตัวต่อฟอง กลับมีอัตราปฏิสนธิลดลงเป็น 68 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากการทดลองของ ศักดิ์ชัย (2544) ที่ทดลองในปลาดุกอุยที่มีอัตราการปฏิสนธิสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของอสุจิ โดยใช้น้ำเชื้อที่มีการเคลื่อนไหว 80 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับอสุจิ $4X10^4$,$6 X10^4$,$8 X10^4$ และ$10 X10^4$ตัวต่อฟอง มีอัตราปฏิสนธิ 64.58,69.5,73.17 และ86.33% ซึ่งอาจเป็นเพราะน้ำเชื้อที่ใช้ในการทดลองมีอัตราการเคลื่อนไหวค่อนข้างน้อย คือ 50 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากของ รายงานการทดลองของกรรณิการ์ (2542)ในปลาดุกอุย ว่าน้ำเชื้อมีอัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 70.76 ±8.62 เปอร์เซ็นต์ โดยการเคลื่อนไหวของอสุจิที่วัดได้น้อยอาจเกิดจากการใช้น้ำเชื้อที่ได้จากพ่อพันธุ์ที่มีความสมบรูณ์พันธุ์ต่ำ และอัตราการปฏิสนธิต่ำในหน่วยทดลองที่ใช้ความเข้มข้นอสุจิสูง อาจเกิดจาก การที่ใช้อสุจิที่อัตราการเคลื่อนที่น้อย 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ความสามารถในการเข้าผสมกับไข่ซึ่งอาจมีบางส่วนเกาะกันเป็นแพ ซึ่งเป็นไข่ที่ยังไม่สุกเต็มที่ จึงไม่เกิดการปฏิสนธิ อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Bart et al. (1999) ที่รายงาน การผสมเทียมในปลา channel catfish โดยใช้ความเข้มข้นอสุจิ $5X10^5$ ตัวต่อฟอง มีอัตราการปฏิสนธิ 100 เปอร์เซ็นต์ดังนั้นในการทดลองนี้จึงถือว่า มีอัตราปฏิสนธิต่ำ อาจเนื่องมาจากการใช้อสุจิที่มีอัตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเคลื่อนไหวน้อย นอกจากนี้ มณีรัตน์ (2544) อ้างตาม นิศา (2533) กล่าวว่า คุณภาพของน้ำเชื้อที่รีดได้มีเลือดปนก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อัตราการปฏิสนธิลดลง และความผิดพลาดอื่นๆที่อาจเกิดขึ้นในขณะทำการทดลองและคุณภาพของไข่ที่ใช้ก็มีส่วนทำให้อัตราปฏิสนธิต่ำหรือผิดพลาดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 อัตราการปฏิสนธิของปลาดุกอุยตามระดับความเข้มข้นของอสุจิ

ตารางที่1 อัตราการปฏิสนธิของปลาดุกอุย

ความเข้มข้นของอสุจิ (ตัวต่อฟอง)	อัตราการปฏิสนธิ (เปอร์เซนต์)
1. $50X10^4$	70.92^a
2. $1X10^6$	73.11^a
3. $150 X10^4$	68^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและข้อเสนอแนะ

การปฏิสนธิในปลาดุกอุย โดยใช้น้ำเชื้อที่มีอัตราการเคลื่อนไหว 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่าค่อนข้างต่ำ ที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิ $50x10^4$, $1x10^6$ และ $150x10^4$ ตัวต่อฟอง มีอัตราการปฏิสนธิ คือ 70.92 , 73.11, 68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ อัตราการปฏิสนธิค่อนข้างต่ำ จึงควรมีการศึกษาทดลองการปฏิสนธิในปลาดุกอุย โดยใช้ความเข้มข้นอสุจิมากกว่า $150x10^4$ ตัวต่อฟอง โดยใช้อสุจิที่มีอัตราการเคลื่อนไหว 80 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเปรียบเทียบผลของอัตราการปฏิสนธิ และควรเลือกแม่ปลาที่มีความสมบรูณ์ของไข่สม่ำเสมอกันให้มากที่สุด เพื่อให้ได้อัตราปฏิสนธิที่เพิ่มขึ้นและดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กฤษณ์ มงคลปัญญา และทัศนีย์ ภูมิพัฒน์. 2536. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง. วารสารการประมง. 36 (3) : 1111-1123.

กรมประมง.2530. ปลาที่เพาะเลี้ยงง่ายตามโครงการบำรุงพันธุ์ปลาแบบประชาอาสา.น.29-38.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2540. คุณภาพของอสุจิสดและอัตราการผสมของไข่ปลาไนยุโรปโดยน้ำเชื้อแช่ แข็ง. วารสารการประมง. 40 (1) : 47-53.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2545. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแช่แข็ง. วารสารการประมง.45 (1) : 65-69.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน ,จงกล พรมยะ, อานุภาพ วรรณคนาพล, รัชต์ ขัตติยะ,จีรเดช มโนสร้อย และ อรัญญา มโนสร้อย.2547. ปริมาณฮอร์โมนเพศ การพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ในรอบปีและอายุของปลาบึกในบ่อดิน. วารสารการประมง. 47 (5) : 447-449.

กรรณิการ์ พวงเพชร. 2542. การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุย. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

จิรชัย จันทนะ,จุรีรัตน์ สงนุ้ย และ ประดิษฐ์ เพ็ชรจรูญ. 2543. ผลความเป็นกรดของน้ำต่ออัตราการฟักไข่ และอัตราการรอดลูกปลาวัยอ่อนของปลาน้ำจืดบางชนิด. วารสารการประมง.47 (5) : 437-443.

ชนิกา คงสวัสดิ์.2542. ผลของจำนวนอสุจิต่ออัตราการปฏิสนธิในปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุย. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

ฐิติมา วัฒนจัง.2545. วิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบระยะสั้นและระยะยาว. สัมมนา ปริญญาตรี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

ทัศนีย์ ภูมิพัฒน์และคณะ.2529. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเทพาและปลาบึก. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ .กรมประมง. 10 น.

ประเสริฐ สีตสิทธิ์.2531. การเลี้ยงปลาดุก. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรุงเทพมหานคร. 8 น.

พรรณศรี จริโมภาส,ภาณุ เทวรัตน์,สุปราณี ชินบุตร และอรรถพล วงศ์อมฤต.2538. พัฒนาการระบบสืบพันธุ์ของปลาดุกอุย. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด กรุงเทพมหานคร. 42 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, สุจินต์ หนูขวัญ และวีระ วัชรกรโยธิน.2538. การพัฒนาการเจริญพันธุ์และอนุบาลลูกปลาดุกอุย. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด กรุงเทพมหานคร. 73 น.

มณีรัตน์ รัตนวิชัย.2544. คุณภาพน้ำเชื้อและผลของจำนวนอสุจิปลาดุกรัสเซียต่อไข่ปลาดุกอุยในการปฏิสนธิ. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

วริยา สรรคชา.2546. คู่มือการเพาะเลี้ยงปลาดุกอย่างมืออาชีพ. พิมพ์ครั้งที่1/2546. สำนกพิมพ์เพชรกะรัต. กรุงเทพมหานคร. 81 น.

ศักดิ์ชัย ชูโชติ.2538. การเพาะและอนุบาลปลาน้ำจืด. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร. 191 น.

ศักดิ์ชัย ชูโชติ และสมศักดิ์ บัณฑุชัย.2544. คุณภาพน้ำเชื้อและผลของจำนวนอสุจิที่มีต่ออัตราการปฏิสนธิของปลาน้ำจืดบางชนิด. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 44 (3) : 25-31.

สุภาพร สุกสีเหลือง.2539. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. ศูนย์ส่งเสริมกรุงเทพฯ. กรุงเทพมหานคร. 282 น.

สุภาพร สุกสีเหลือง.2542. มีนวิทยา. ศูนย์ส่งเสริมกรุงเทพฯ. กรุงเทพมหานคร. 192 น.

A. Marconato and D.Y.Shapiro.1996. Sperm allocation, sperm production and fertilization rates in the bucktooth parrotfish. *Animal Behav.* 52 : 971-980.

A. N. Bart and R.A. Duham.1995. Effects of sperm concentration and egg number on fertilization efficiency with Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) eggs and Blue catfish (*I. furcatus*). *Theriogenology.* 45 : 673-682.

A.T.M. Viveiros , N. So and J .Komen.2000. Sperm cryopreservation of African catfish, *Clarias gariepinus*: Cryoprotectants, freezing rates and sperm : egg dilution ratio. *Theriogenology.* 54 : 1395-1408.

Barbaro Alvarez, Roberto Fuentes, Rafael Pimentel, Zoila Abad, Edenaida Cabrera, Eulogio Pimentel, Amilcar Arenal.2002. High fry production rates using post- thaw silver carp *(Hypophthalmichthys molitrix)* spermatozoa under farming conditions. *Aquaculture.*220 :195-201.

B. Ogier de Baulny , C. Labbe, and G. Maisse.1999. Membrane integrity , mitochondrial activity, ATP content, and motility of the European Catfish (*Silurus glanis*).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

testiscular spermatozoa after freezing with different cryoprotectants. *Cryobiology*. 39 :177-184.

F. Lahnsteiner , B. Berger, T. Weismann.2002. Effect of media, fertilization technique, extender, straw volume, and sperm to egg ratio on hatchability of cyprinid embryos, using cryopreserved semen. *Theriogenology*. 60 : 829-841.

Josefa D. Tan-Fermin , Takeshi Miura, Shinji Adachai , Kohei Yamauchi.1999. Seminal plasma composition, sperm motility, and milt dilution in Asian catfish *Clarias Marcrocephalus* (Gunther). *Aquaculture*. 171 : 323-338.

L.VF Silva, J.I. Golombieski , B. Baladisserotto.2003. Incubation of silver carp, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae), eggs at different calcium and magnesium concentrations. *Aquaculture*. 62462 : 1-9.

Marji Keinanen, Christina Tigerstedt, Pia Kalax, and Pekka J. Vuorinen.2003. Fertilization and embryonic development of Whitefish (*Coregonus lavaretus lavaretus*) in acidic low –ionic-strength water with aluminum. *Ecotoxicology and environmemtal safety*. 55 : 314-329.

M. Suquet , R. Billard ,J. Cosson ,Y.Normant, C. Fauvel.1995. Artificial insemination in turbot (*Scophthalmus maximus*) : determination of the optimal sperm to egg ratio and time of gamete contact. *Aquaculture*.133 : 83-90.

Otomar Linhart , Shigeharu Kudo, Roland Billard, Vlastimil Slechta, Ekatherine V. Mikodina. 1995. Morphology, composition and fertilization of carp eggs : a review. *Aquaculture*.129 : 75-93.

Song-Lin Chen, Xiang-Shan Ji , Guo-Cai Yu , Yong-Sheng Tian, Zhen-Xia Sha.2004. Cryopreservation of sperm from turbot (*Scophthalmus maximus)* and application to large-scale fertilization. *Aquaculture*. 236 : 547-556.

Tatsuya Unuma ,Shigenori Kondo, Hideki Tanaka, Hirohiko Kagawa, Kazuharu Nomura, Hiromi Ohta.2004. Determination of the rates of fertilization, hatching and larval Survival eel, *Anguilla japonica* , using tissue culture microplates. *Aquaculture*. 241 : 345-356.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 เปอร์เซนต์ค่าเฉลี่ยอัตราปฏิสนธิของไข่ปลาchannel catfish (*Ictalurus punctatus*)**ที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิปลา**Blue catfish (*I. Furcatus*) **ที่แตกต่างกัน.**

จำนวนอสุจิต่อไข่ (10^5)	จำนวนซ้ำ	ค่าเฉลี่ย%อัตราการปฏิสนธิ (S.D.)
0.05	30	16.6 [b] (15.3)
0.125	32	51.8 [c] (31.6)
0.25	71	57.6 [c](31.0)
0.5	42	76.0 [c](21.1)
1	16	67.6 [c] (17.5)
4	42	73.7 [c] (26.9)
8	6	79.3 [c](10.5)
10	18	75.8 [c] (27.8)
12	6	87.2 [c] (7.9)

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกัน

ที่มา Bart and Duham (1995).

ตารางภาคผนวกที่2 เปอร์เซนต์ค่าเฉลี่ยอัตราปฏิสนธิของไข่ปลาchannel catfish (*Ictalurus punctatus*) **ที่ความหลากหลายของปริมาณไข่ที่ใช้ในการปฏิสนธิกับอสุจิปลา**Blue catfish (*I. Furcatus*)

ปริมาณไข่	จำนวนซ้ำ	ค่าเฉลี่ย%อัตราการปฏิสนธิ (S.D.)
450	211	67.0[b] (30.2)
2,000	6	54.2 [b] (33.0)
5,000	21	63.5 [b] (28.8)
8,000	9	57.3 [b](23.1)
11,000	4	25.0 [c](41.0)

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกัน

ที่มา Bart and Duham (1995).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่3 อัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟักของปลา Asian catfish *(C. macrocephalus)* **จากการผสมน้ำเชื้อกับASPในอัตราส่วนต่าง ๆ.**

น้ำหนักไข่ (กรัม)	อัตราส่วนน้ำเชื้อ : ASP	อัตราการปฏิสนธิ (%)	อัตราการฟัก (%)
5	1:10	94.0±1.5	40.4±3.5 [a]
	1:50	94.2±0.9	39.0±3.6 [a]
	1:100	93.3±1.2	43.2±3.5 [a]
10	1:10	94.2±0.8	31.4±3.2 [b]
	1:50	92.6±1.4	33.1±3.8 [b]
	1:100	89.2±2.1	31.1±3.4 [b]

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกัน

ที่มา Fermin et.al., (1998)

การประเมินพ่อพันธุ์ปลาดุกอุย

1. น้ำหนักรวม 216.25 กรัมต่อตัว
2. ความยาวตลอดลำตัวเฉลี่ย 32.12 เซนติเมตร
3. อัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิ 50 เปอร์เซ็นต์
4. ความเข้มข้นของอสุจิ $860x10^6$ ตัวต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
5. น้ำหนักอัณฑะรวม 5.34 กรัม

ตารางภาคผนวกที่ 4 **ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแม่พันธุ์ปลาดุกอุย**

จำนวนซ้ำ	น้ำหนักรวม (กรัม)	ความยาวตลอดลำตัว (เซนติเมตร)	น้ำหนักไข่รวม (กรัม)	น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อ 300 ฟอง (กรัม)
1	400	32.5	22.93	0.55
2	600	42	52.59	0.64
3	400	32	24.4	0.46
4	400	30	28.22	0.49
ค่าเฉลี่ย	450	34.13	32.03	0.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่5 อัตราปฏิสนธิของปลาดุกอุย

กลุ่ม/ซ้ำ	กลุ่มที่1	กลุ่มที่2	กลุ่มที่3
ซ้ำที่1	82.5	83.21	77.22
ซ้ำที่2	68.22	71.7	77.84
ซ้ำที่3	73.92	73.95	75.79
ซ้ำที่4	59.06	63.6	41.17
ค่าเฉลี่ย ^{ns}	70.92	73.11	68

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

ตารางภาคผนวกที่6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการปฏิสนธิปลาดุกอุย

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	52.57947	2	26.28973	0.16334	0.851764	4.256492
Within Groups	1448.556	9	160.9507			
Total	1501.136	11				

Fcrit =4.256492 และ F =0.16334

Fcrit > F แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มที่ 1 , 2 และ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้