



สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอูย

Semen Evaluation of Common Silver Barb, Common Carp and Walking Catfish



T099286

โดย

นางสาวกรรณิการ์ พวงเพชร

ป.พ.
ก1731
2542

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 99286
วัน,เดือน,ปี..... 15/11/2542

เสนอ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุย
Semen Evaluation of Common Silver Barb, Common Carp and Walking Catfish

โดย

นางสาวกรรณิการ์ พวงเพชร

ได้รับความเห็นชอบโดย
อาจารย์ที่ปรึกษา.....

(รศ. ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

.....
(รศ. สมศักดิ์ บัณเฑาะว์)

รฟ
ก 1730
2542

17035
13 พ.ย. 2543

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
อาจารย์สมชาย หวังวิบูลย์กิจ

รักษาการหัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาคูกอุย

Semen Evaluation of Common Silver Barb, Common Carp and Walking Catfish

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาคูกอุย ในด้านการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ ความเข้มข้นของอสุจิ รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิ อสุจิที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ ผลปรากฏว่า น้ำเชื้อของปลาตะเพียนขาวมีการเคลื่อนไหวของอสุจิ 87.5 ± 2.61 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของอสุจิ $27,170 \times 10^6 \pm 6,958.41 \times 10^6$ เซลล์ / มิลลิลิตร รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิมีส่วนหัวที่กลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.45 ± 0.33 ไมครอน หางมีความยาว 15.58 ± 1.5 ไมครอน อสุจิที่มีชีวิต 98 ± 1.04 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ 7.04 ± 0.33 น้ำเชื้อของปลาไนมีการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ 88.5 ± 2.41 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของอสุจิ $31,708 \times 10^6 \pm 13,622.80 \times 10^6$ เซลล์ / มิลลิลิตร รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิมีส่วนหัวที่กลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.80 ± 0.25 ไมครอน หางมีความยาว 15.58 ± 3.56 ไมครอน อสุจิที่มีชีวิต 97 ± 1.28 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ 7 น้ำเชื้อของปลาคูกอุยมีการเคลื่อนไหวของอสุจิ 70.76 ± 8.62 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของอสุจิเมื่อขยี้จะผสมกับน้ำเกลือ 1 มิลลิลิตร $1,887 \times 10^6 \pm 1,759 \times 10^6$ เซลล์ / มิลลิลิตร รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิมีส่วนหัวที่กลม เรียวมีความกว้าง 1.07 ± 0.18 ไมครอน มีความยาว 1.72 ± 0.31 ไมครอน หางมีความยาว 17.69 ± 3.39 ไมครอน อสุจิที่มีชีวิต 79.69 ± 6.47 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ 6.5

คำนิยาม

ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ รองศาสตราจารย์สมศักดิ์ บัณจุชัย อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษซึ่งได้ให้คำแนะนำปรึกษาที่มีประโยชน์อย่างยิ่งตลอดเวลาการทำปัญหาพิเศษ จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์ในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ให้สำเร็จลงด้วยดี

กรรณิการ์ พวงเพชร

25 เมษายน 2543



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	11
สรุป	18
ข้อเสนอแนะ	19
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	22



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ค่าเฉลี่ยขนาดปลา ปริมาณน้ำเชื้อ และคุณภาพน้ำเชื้อ ปลาตะเพียนขาวปลาไน และปลาดุกอุย	14
ตารางผนวกที่	
1. ค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศ (gonosomatic index) ของปลาดุกอุย	23
2. ค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว	24
3. ค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำเชื้อปลาไน	25
4. ค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำเชื้อปลาดุกอุย	26
5. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักปลาตะเพียนขาว (กิโลกรัม) กับปริมาณน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว (มิลลิลิตร)	27
6. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว (มิลลิลิตร) ความเข้มข้นของอสุจิปลาตะเพียนขาว ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร)	28
7. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักปลาไน (กิโลกรัม) กับปริมาตร น้ำเชื้อปลาไน (มิลลิลิตร)	29
8. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำเชื้อปลาไน (มิลลิลิตร) กับความเข้มข้นของอสุจิปลาไน ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร)	30
9. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักปลาดุกอุย (กรัม) กับน้ำหนัก อวัยวะปลาดุกอุย (กรัม)	31
10. ความสัมพันธ์ของน้ำหนักอวัยวะปลาดุกอุย (กรัม) กับความเข้มข้น ของอสุจิปลาดุกอุย ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร)	32

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ความสัมพันธ์ของน้ำหนักตัวกับปริมาตรน้ำเชื้อในปลาตะเพียน	15
2. ลักษณะของเซลล์สุจิปลาตะเพียนขาว	15
3. ความสัมพันธ์ของน้ำหนักตัวกับปริมาตรน้ำเชื้อในปลาไน	16
4. ลักษณะของเซลล์สุจิปลาไน	16
5. ความสัมพันธ์ของน้ำหนักปลากับอัตราไข่ในปลาตุ๊กต๋	17
6. ลักษณะของเซลล์สุจิปลาตุ๊กต๋	17



การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาคุกอุย

Semen Evaluation of Common Silver Barb, Common Carp and Walking Catfish

บทนำ

ปัจจุบันปลาที่มีความสำคัญของประเทศบางชนิดเริ่มที่จะหายากหรือบางชนิดก็กำลังสูญพันธุ์ไปจากสภาพแวดล้อม เช่น ปลานิล ปลาทู ปลานิล ปลานิล เป็นต้น ปลาหายากเหล่านี้จำเป็นต้องได้รับการขยายพันธุ์ให้มีปริมาณมากขึ้น แต่ด้านการเพาะขยายพันธุ์ประสบปัญหาในการจับพ่อแม่พันธุ์ที่จะนำมาผสมพันธุ์ได้ไม่พร้อมกัน หรือจับได้เฉพาะเพศใดเพศหนึ่งเท่านั้น ทำให้ไม่สามารถนำมาผสมพันธุ์กันได้ ซึ่งการแก้ปัญหาคือ การผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งหรือการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อก่อนที่จะผสมเทียม เพื่อให้ทราบว่าควรนำน้ำเชื้อไปใช้ในงานผสมเทียมหรือไม่ เพราะถ้าใช้น้ำเชื้อที่นำมาประเมินคุณภาพ ไม่ได้มาตรฐานก็จะต้องเสียค่าใช้จ่าย และเวลาในการนำน้ำเชื้อที่มีคุณภาพต่ำไปใช้ในงานผสมเทียม ก่อนที่จะประเมินคุณภาพน้ำเชื้อควรทราบถึงลักษณะ ปริมาตร และคุณภาพของน้ำเชื้อปลาแต่ละชนิด เช่น เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิ (sperm motility) ความเข้มข้นของอสุจิ (sperm concentration) รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิ (sperm morphology) เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต (live and dead sperm) และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ เพราะคุณสมบัติของน้ำเชื้อดังกล่าวสามารถคาดคะเนความสามารถในการผสมกับไข่ (probable fertilizing ability) ซึ่งเกรียงศักดิ์ (2540) รายงานว่าอัตราการผสมติดของไข่แปรผันกับระดับการเคลื่อนที่ของอสุจิ

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีความมุ่งหมายที่จะเก็บรวบรวมข้อมูลพื้นฐานทางด้านคุณภาพของน้ำเชื้อในแง่ดังกล่าวข้างต้น ของปลาที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ 3 ชนิดคือ ปลาตะเพียนขาว (Common Silver Barb, *Puntius gonionotus*) ปลาไน (Common Carp, *Cyprinus carpio*) และปลาคุกอุย (Walking Catfish, *Clarias macrocephalus*) เพื่อประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงปลาทั้ง 3 ชนิดต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาดุกอุยในด้านการเคลื่อนไหวของอสุจิ ความเข้มข้นของอสุจิ รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิ อสุจิที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ความสำคัญของการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

ปัจจุบันจำนวนประชากรของประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ปริมาณสัตว์น้ำที่จับได้ต่อปีมีจำนวนลดลง อันเนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ เช่น การนำเกลือของน้ำ ทำให้เกิดโรคระบาดของโรคสัตว์น้ำในแหล่งธรรมชาติและบ่อเลี้ยง ดังนั้นการเพาะขยายพันธุ์ทางการผสมเทียมจึงเข้ามามีบทบาทในการเพิ่มปริมาณสัตว์น้ำ (กฤษณ์, 2536) แต่การผสมเทียมยังประสบปัญหาจับพ่อแม่พันธุ์ได้ไม่พร้อมกัน หรือจับได้เฉพาะเพศใดเพศหนึ่งเท่านั้น ทำให้ไม่สามารถผสมพันธุ์กันได้ ซึ่งแนวทางในการแก้ปัญหาคือ การผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งหรือประเมินคุณภาพน้ำเชื้อก่อนผสมเทียม เพื่อให้ทราบว่าควรนำน้ำเชื้อไปใช้ในการผสมเทียมหรือไม่ เพราะถ้าน้ำเชื้อที่นำมาประเมินมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานก็ต้องเสียค่าใช้จ่ายและเวลาที่นำน้ำเชื้อไปใช้ในการผสมเทียม คุณภาพน้ำเชื้อที่ผ่านการประเมินสามารถคาดคะเนการปฏิสนธิได้ เช่น การเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ และการปฏิสนธิจะแปรผันตามกัน (เกรียงศักดิ์, 2540)

วิธีการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลา

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อปลาจะมีการประเมิน 5 วิธี ที่เป็นที่นิยมและเหมาะสม คือ การเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ เซลล์อสุจิที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิ และการตรวจอัตราการปฏิสนธิ (นลินี, 2527)

การตรวจอัตราการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ เป็นวิธีที่ง่ายมากและรวดเร็ว (Amrit, 1998) สามารถประเมินเปอร์เซ็นต์ของการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิ และระดับการเคลื่อนที่ (Mounib, 1998) ตามนลินี, 2527) การประเมินระดับการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิมี 2 แบบ คือ การประเมินการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิเป็นกลุ่ม และประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์ การประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์เป็นวิธีที่ต้องตรวจดูการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิเป็นรายตัวแล้วประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยผู้บวบริเวณที่อสุจิเคลื่อนที่แล้วประเมินว่าเซลล์อสุจิ 100 ตัว มีการเคลื่อนที่กี่ตัว สำหรับการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิเป็นกลุ่มจะใช้วิธีของ Mounib (1978) และวิธีของ Billard และ คณะ (1991) โดยแบ่งการเคลื่อนที่ที่เป็น 10 ระดับ ระดับ 1 หมายถึงเซลล์อสุจิที่มีความอ่อนแอมาก (อสุจิเคลื่อนที่ 0-10%) ระดับ 10 หมายถึงเซลล์อสุจิที่เคลื่อนที่มีความปราดเปรียวสูง (90-100%) การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อด้วยวิธีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจการเคลื่อนที่ได้ผลไม่คืนัก เนื่องจากตัวอสุจิของปลาที่นำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเคลื่อนไหวในช่วงระยะสั้นๆ เท่านั้น (William และคณะ, 1985) ปัจจุบันได้มีการใช้กล้องถ่ายภาพบันทึกภาพตัวอสุจิที่กำลังเคลื่อนที่โดยวัดระยะทางที่ได้ต่อหน่วยเวลาที่กำหนดให้ (Saad และคณะ, 1988)

การตรวจความเข้มข้นของอสุจิหมายถึง จำนวนเซลล์อสุจิต่อลูกบาศก์เซ็นติเมตร วิธีการนี้คัดแปลงมาจากวิธีการนับเซลล์เม็ดเลือด โดยใช้เครื่อง hemacytometer ซึ่งมี 2 แบบคือ Fuchs-Rosenthal และ Neubauer Hemacytometer ประกอบด้วยสไลด์ที่มีช่องนับ (counting chamber) 2 ช่อง และไปเปตเจ็องน้ำซี้อ (dilution pipette) ซึ่งเป็นไปเปตสำหรับการตรวจนับเม็ดเลือด โดยมีอัตราเจ็อง 1:200 (ศักดิ์ชัย, 2538)

การเจ็องและเตรียมน้ำซี้อเพื่อตรวจนับเซลล์อสุจิกระทำได้ดังนี้ คือ ดูดน้ำซี้อถึงขีด 0.5 ของไปเปตแล้วดูดสารเจ็องน้ำซี้อให้ถึงขีด 101 ของไปเปตแล้วเขย่าไปเปตเพื่อให้ น้ำซี้อและสารเจ็องผสมกันได้ดี หยคน้ำซี้อที่เจ็องที่ขอบสไลด์ที่มีขอบแผ่นกระจกวางเหนือช่องสไลด์ ทั้งไว้สักครู่เพื่อให้เซลล์อสุจิคงที่แล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ (นลินี, 2527) แต่วิธีการนับและคำนวณความเข้มข้นของเซลล์อสุจิจากการใช้เครื่อง Fuchs-Rosenthal hemacytometer และ Neubauer hemacytometer แตกต่างกัน วิธีการนับเซลล์จากการใช้ Fuchs-Rosenthal hemacytometer จะสุ่มนับจำนวนเซลล์อสุจิในสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่เพียงช่องเดียว ส่วนการใช้ Neubauer hemacytometer จะสุ่มนับเซลล์อสุจิจากสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่ 5 ช่อง (ศักดิ์ชัย, 2538)

วิธีการคำนวณความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ

Fuchs-Rosenthal hemacytometer

ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ = จำนวนเซลล์อสุจิในสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่ 1 ช่อง x 50,000 อัตราการเจ็อง

Neubauer hemacytometer

ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ = จำนวนเซลล์อสุจิในสี่เหลี่ยมจัตุรัส 5 ช่อง x 50,000 x อัตราการเจ็อง

การตรวจตัวเป็นตัวของเซลล์อสุจิ (live-dead sperm) เป็นวิธีตรวจสอบดูว่าน้ำซี้อมีเซลล์อสุจิที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต เป็นที่เปอร์เซ็นต์ (กฤษณ์, 2536) โดยอาศัยหลักการย้อมสี ซึ่งจะใช้สารประกอบฟาโลเจนที่เป็น derivative ของฟูออเรสซิน เช่น eosin และ erythrocine โดยใช้ร่วมกับเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีที่ทำให้เกิดความแตกต่างของ back ground ให้เห็นเด่นชัดคือ nigrosin (วิทช์, 2522) ดังนั้น Eosin-Nigrosin จะเป็นที่ยอมรับ eosin เป็นสีย้อมพิเศษไม่สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิที่มีชีวิต แต่สามารถซึมผ่านเข้าไปในตัวอสุจิที่ตายให้เป็นสีชมพู ส่วน nigrosin จะทำให้ back ground ดิบสีเข้ม จึงทำให้สามารถเห็นตัวอสุจิที่มีชีวิตซึ่งไม่ติดสี

การประเมินรูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิเป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบเซลล์อสุจิมี่รูปร่างลักษณะที่ปกติและผิดปกติที่เปอร์เซ็นต์ โดยอาศัยสไลด์ย้อมสีจากการตรวจตัวอสุจิที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต การตรวจควรใช้กล้องจุลทรรศน์ ที่มี phase contrast ซึ่งทำให้มองเห็นชัดเจน ง่ายต่อการประเมิน

การตรวจอัตราการปฏิสนธิเป็นวิธีที่สามารถเชื่อมั่น ได้ดีที่สุดสำหรับการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ (กฤษณ์, 2536) แต่ต้องใช้เวลามาก (อุทัยรัตน์, 2535) และเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ แข็งแข็งที่แพร่หลาย (Lannsteinor และ Palzner, 1992)

ลักษณะและปริมาณน้ำเชื้อปลา

น้ำเชื้อปลา (milte) มีสีขาวคล้ายน้ำมันขุ่นเหนียว แต่กลิ่นคาวจัด ถ้าน้ำเชื้อปลามีสีเหลืองปนคุณภาพน้ำเชื้อปลาจะไม่ดี ส่งผลกระทบต่ออัตราการปฏิสนธิ (วนิศา, 2533) เกรียงศักดิ์ (2540) รายงานว่าปริมาณน้ำเชื้อปลาที่รีดได้จากปลาแต่ละชนิดรวมทั้งความหนาแน่นของอสุจิมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดของปลา เพราะปลาแต่ละชนิดมีวิวัฒนาการดำรงเผ่าพันธุ์ที่แตกต่างกัน เช่น ปลาอุกวางไข่จำนวนน้อยและปริมาณน้ำเชื้อมีน้อย แต่เปอร์เซ็นต์การฟักตัวสูงเพราะไข่ปลาคูเป็นชนิดจมติดวัตถุ มีพฤติกรรมเผ่าคู่แฉ่งและเลี้ยงตัวอ่อน สำหรับปลาที่มีไข่เป็นชนิดครึ่งลอยครึ่งจม ไม่มีการเผ่าคู่แฉ่งและเลี้ยงตัวอ่อน แต่มีการวางไข่และมีปริมาณน้ำเชื้อมาก เช่น ปลาคะเพียน (ศักดิ์ชัย, 2538) กฤษณ์ (2536) รายงานว่า ช่วงเวลาในฤดูผสมพันธุ์มีผลทำให้เกิดความแตกต่างของปริมาณน้ำเชื้อ และความเข้มข้นของอสุจิในปลาตัวเดียวกัน เช่น ปลาเรนโบว์ เทราน์ มีปริมาณน้ำเชื้อและความเข้มข้นของอสุจิสูงในระยะต้นฤดูผสมพันธุ์ และคงที่ในระยะต่อมา

รูปร่างลักษณะของอสุจิปลา

อสุจิของปลามีส่วนประกอบที่สำคัญ 3 ส่วน คือ หัว midpiece และหาง ซึ่งลักษณะของเซลล์อสุจิของปลาแต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามชนิดของปลา (Billard, 1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัว เป็นส่วนที่ประกอบด้วยนิวเคลียส มีโครโมโซม 1 ชุด ล้อมรอบด้วยไซโทพลาสซึม เพียงบางๆ และห่อหุ้มด้วย plas malemma (cell membrane) รูปร่างลักษณะของส่วนหัวของอสุจิมีหลายแบบ เช่น กลม รี แท่งหรือยัก เป็นต้น เช่น ปลาไน ส่วนหัวของอสุจิมีลักษณะกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 3 ไมครอน (Billard, 1988) ปลาตะเพียน ส่วนหัวของอสุจิมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ไมครอน (Billard, 1988) ปลาอุกส่วนหัวของอสุจิมีลักษณะกลมรียาว (นลินี, 2527)

midpiece เป็นส่วนที่เชื่อมต่อระหว่างหัวและหาง มีรูปร่างแตกต่างตามชนิดของปลา ประกอบด้วย microtubules ซึ่งเป็นแกนกลางของส่วนหาง ล้อมรอบด้วยไซโทพลาสซึม ภายในมี mitochondria และ centriole (Lahnsteimer และคณะ, 1991)

หางของอสุจิปลาเป็นส่วนช่วยในการเคลื่อนที่ประกอบด้วย microtubles เรียงรอบแกนกลาง ล้อมรอบด้วย plasma membrane ปลาดำใหญ่มี microtubules เป็นแกนกลางคู่ 1 คู่ และเรียงเป็นวงกลมอีก 9 คู่ ยกเว้นปลาในพวก Anguilliformes และ Elopiformes ซึ่งไม่มี microtubules เป็นแกนกลาง โดยส่วนใหญ่ของอสุจิมีหางเพียงหางเดียว แต่ในปลาบางชนิด เช่น *Porichtyis notatus* จะมี 2 หาง ซึ่งลักษณะอสุจิมี 2 หางนี้พบบ้างเป็นบางครั้ง ในปลา Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) และปลาหางนกยูง ปลาครอบครัว กลุ่ม Mormyriiformes เชื้อเพศผู้ไม่มีหาง (ศักดิ์ชัย, 2538) Lahnsteiner and Patzner (1991) รายงานว่า หางของอสุจิปลาแต่ละชนิดจะมีขนาดและลักษณะที่แตกต่างกัน เช่น ปลาไน มีส่วนหางของอสุจิยาว 28 ไมครอน (Billard, 1988) ปลาตะเพียนมีส่วนหางของเซลล์อสุจิยาว 38 ไมครอน (นลินี, 2527)

การเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิปลา

โดยทั่วไปเซลล์อสุจิปลาเมื่ออยู่ในรูป seminal fluid หรือเมื่อรีดได้จะไม่เคลื่อนที่ แต่เมื่ออยู่ในน้ำจะเคลื่อนที่อย่างปราดเปรียว ซึ่งต่างจากน้ำเชื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่รีดออกมาจะเคลื่อนไหว เซลล์อสุจิปลาที่ได้รับกระตุ้นให้เคลื่อน ไหวจะมีชีวิตอยู่ได้ไม่นาน โดยมีอัตราเร็วในการเคลื่อน และระยะเวลาในการเคลื่อนไหวแตกต่างกัน ไปขึ้นอยู่กับชนิดของปลา เช่น เซลล์อสุจิของปลาทะเล และปลาน้ำจืด ส่วนใหญ่จะเคลื่อนไหวได้นานกว่าเซลล์อสุจิของปลาน้ำจืด สำหรับน้ำที่ใช้กระตุ้นการเคลื่อนไหวของอสุจิก็นับอยู่กับชนิดของปลา เช่น น้ำจืดกระตุ้นการเคลื่อนไหวของอสุจิปลา น้ำจืดหรือน้ำทะเลกระตุ้นการเคลื่อนไหวของอสุจิปลาทะเล (ศักดิ์ชัย, 2538) ดังนั้นจึงสันนิษฐานถึงปัจจัยที่ก่อให้เกิดการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิปลาในแหล่งน้ำได้ดังนี้คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ภาวะออกซิเจนในน้ำมีปริมาณที่สูงกว่าในสภาพที่อยู่ใน seminal fluid
2. ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของน้ำกระตุ้นการเคลื่อนที่ซึ่งปกติมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ 6.5-7.5
3. ปริมาณอ็อกซิเจนของสังกะสีและทองแดงเป็นตัวกระตุ้น เช่น พบในปลาทะเลจะมีการเคลื่อนที่เร็วและนานกว่าปลาน้ำจืดเพราะในทะเลมีอ็อกซิเจนของสังกะสีและทองแดงเป็นตัวกระตุ้น
4. คุณสมบัติไฮโปโทนิก (Hypotonic) พบในปลาหมอนที่อยู่น้ำจืด อสุจิจะมีการเคลื่อนไหวที่น้อยกว่า 2 นาที แต่เมื่ออยู่ในน้ำเค็ม 3-6 ppt จะเคลื่อนไหวได้นานขึ้นอีก และใน 10 ppt มีการเคลื่อนไหวได้นานที่สุด (ศักดิ์ชัย, 2538)

ดังนั้นโดยทั่วไปจึงนิยมใช้เกลือที่มีความเข้มข้น 0.6-0.7% ซึ่งมีคุณสมบัติไฮโปโทนิกมากระตุ้นการเคลื่อนไหวและยืดอายุเซลล์อสุจิ (Rex, 1999)

ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ

ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิที่ได้จากปลาแต่ละชนิดจะมีความเข้มข้นแตกต่างกัน เพราะพฤติกรรมและแหล่งน้ำที่ใช้ในการผสมพันธุ์แตกต่างกัน เช่น ปลานวลจันทร์ (*Chanos chanos*) มีความเข้มข้น $3.691 \pm 0.72 \times 10^{12}$ เซลล์/มิลลิลิตร (William, 1985) ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) มีความเข้มข้น $2700 \pm 1650 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร (Rana, 1989) ปลาเรนโบว์เทราท์ มีความเข้มข้น 25×10^2 เซลล์/มิลลิลิตร ปลา Trout มีความเข้มข้น 40×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร (Hochman และคณะ, 1985 อ้างตาม วณิช, 2530) ปลา Perch มีความเข้มข้น 3×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร (Koemig และคณะ, 1978) เป็นต้น

การเก็บน้ำเชื้อปลาโดยการแช่แข็ง

การเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งเป็นวิธีที่ช่วยในการเพาะเลี้ยงและการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งเป็นขบวนการนำน้ำเชื้อปลาผสมกับน้ำยาเจือจางที่ไม่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้อสุจิเคลื่อนที่เพื่อรักษาตัวอสุจิ และสามารถผสมกับไข่ได้ผลใกล้เคียงกับน้ำเชื้อสด (ศักดิ์ชัย, 2538)

วิธีเก็บน้ำเชื้อปลานิยมทำกัน 2 แบบ คือ เก็บรักษาในระยะเวลาสั้นในถังน้ำแข็งหรือตู้เย็นที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 0°C เล็กน้อย และอีกวิธีหนึ่งเก็บรักษาแบบระยะยาวนานโดยการแช่แข็งในถังเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196°C การเก็บรักษาในระยะสั้นอาจเก็บแบบแช่แข็งหรือแบบตัดแปลง โดยเจือจางน้ำเชื้อด้วยสารเคมีต่างๆ เก็บในอุณหภูมิสูงกว่า 0°C เล็กน้อย เก็บรักษาได้ในระยะเวลาที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของปลา เช่น ปลาไน (*Cyprinus carpio*) เก็บได้ 45 ชั่วโมง (Hulata และ Rothbard, 1979) ปลาเรนโบว์เทราท์ (*Salmon gairdneri*) เก็บได้ 5 วัน (Billard, 1981) ส่วนการเก็บรักษาในถังไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196°C ผสมน้ำเชื่อมกับ protective agent เช่น glycerol หรือ dimethyl sulfide (DMSO) ในอัตราส่วนที่เหมาะสม วิธีนี้จะสามารถเก็บรักษาคุณภาพของน้ำเชื้อไว้ได้นาน เช่น ปลาแซลมอน เก็บรักษาได้นาน 2 ปี (Hofgins และ Ridgway, 1964)

การทำน้ำเชื้อแช่แข็งสิ่งสำคัญคือ สารเจือจางน้ำเชื้อซึ่งมีใช้หลายสูตร และแต่ละสูตรที่เลือกใช้ต้องมีค่า osmolality ใกล้เคียงกับของเหลวในน้ำเชื้อปลา เพื่อป้องกันการกระตุ่นการเคลื่อนไหว หรือการใช้พลังงานของอสุจิ จึงมีการเปลี่ยนแปลงสูตรให้เหมาะสม เช่น ใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่มี $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ซึ่งจะช่วยการเคลื่อนที่ของอสุจิดีขึ้น โดยการกระตุ้นใช้พลังงานจาก Adenosine Triphosphate (ATP) และ Cyclic Adenosine Monophosphate (AMP) ใน Mitochondria ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มโอกาสในการผสมติด (Goodal และคณะ, 1982) Chen และคณะ (1991) ทดลองเก็บอสุจิปลาในแช่แข็งในสารประกอบด้วย NaCl, KCl, glucose และ DMSO 10-12% มีระดับการเคลื่อนไหวของอสุจิ 60% สารละลายแช่แข็งควรมี pH 7.9-10.8 อัตราการผสมติด 75% โดยใช้อสุจิ 0.5×10^6 เซลล์/ไข่ นอกจากนี้ปรับสูตรน้ำยาเจือจางแล้ว การปรับปรุงเทคนิคการผสมเทียมก็เป็นเรื่องที่นำพิจารณาเพื่อส่งผลให้อัตราการผสมติดเพิ่มขึ้น เช่น ผสมเทียมโดยใช้น้ำยากระตุ้นการเคลื่อนที่ คือ borax-boric acid buffer แทนการใช้จากแหล่งธรรมชาติ ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนของสารพิษ (steyn และคณะ, 1989) หรือปรับระดับแมกนีเซียมในน้ำที่ใช้เพาะฟักอาจเป็นการช่วยให้ไข่ได้รับการผสมและมีเปอร์เซ็นต์การฟักตัวเพิ่มขึ้น (Van และคณะ, 1991 อ้างตาม กลุณย์, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์ และ วิธีการ

อุปกรณ์

1. ปลายที่ใช้ในการทดลอง คือ ปลายตะเพียนขาว ปลายโน และ ปลายคอกอุยเทศผู้ จำนวน 12, 10 และ 13 ตัวอย่างตามลำดับ
2. กล้องจุลทรรศน์
3. สีย้อม Eosin-Nigrosin
4. น้ำเกลือ 0.9 % และ 0.7 %
5. กระจกย้อมสี
6. ไปแปลเจ็องจางน้ำเชื้อพร้อมสไลด์ Hemacytometer
7. แผ่นสไลด์ พร้อม cover glass
8. ตะเกียงแอลกอฮอล์

วิธีการ

1. การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ
 - 1.1 ชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวของปลายตะเพียนขาว ปลายโน และปลายคอกอุยเทศผู้ จำนวน 12, 10 และ 13 ตัวอย่างตามลำดับ
 - 1.2 วัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อปลา โดยใช้กระจกย้อมสี
 - 1.3 ตรวจสอบการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้น้ำกลั่นกระดุน
 - 1.4 ตรวจสอบความเข้มข้นของ เซลล์อสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ไปแปล เจ็องจางน้ำเชื้อ ซึ่งมีอัตราการเจ็องจาง 1 / 200 ด้วยสไลด์ Hemacytometer ตรวจสอบด้วยวิธี Neubauer

สูตรคำนวณ

ความเข้มข้นของอสุจิ = จำนวนเซลล์อสุจิในสี่เหลี่ยมจัตุรัส 5 ช่อง x 50,000 x อัตราการเจ็องจาง

- 1.5 ตรวจสอบว่าเป็นตัวตายของเซลล์อสุจิ โดยใช้หลักการย้อมสีของ Eosin-Nigrosin ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์
- 1.6 วัดขนาดหัวและหางของเซลล์อสุจิ

2. การบันทึกข้อมูล

1.7 บันทึก น้ำหนัก และ ความยาวของปลาที่จะประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

1.8 บันทึกผลการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิ ความหนาแน่นของเซลล์อสุจิ , เปอร์เซ็นต์ตัวเป็นตัวตาย , ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ และขนาดของเซลล์อสุจิ

4. สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการผสมเทียม ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

5. ระยะเวลาทดลอง

เริ่มทดลอง เดือน เมษายน 2542 ถึง เดือน ธันวาคม 2542



ผลการทดลองและวิจารณ์

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว

ผลจากการศึกษาการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวที่แสดงในตารางที่ 1 พบว่า ปลาตะเพียนขาวมีน้ำหนักเฉลี่ย 121.5 ± 26.86 กรัม ความยาวเฉลี่ย 20.49 ± 1.73 เซนติเมตร เป็นขนาดที่มีความสมบูรณ์เพศ มีปริมาณน้ำเชื้อเฉลี่ย 0.5 ± 0.41 มิลลิลิตร สอดคล้องกับ นลินี (2526) ที่รายงานว่าปลาตะเพียนขาวที่มีความยาว 19.9 ± 0.45 เซนติเมตร มีปริมาณน้ำเชื้อ 0.5 มิลลิลิตร น้ำเชื้อปลาตะเพียนขาวที่รีด ได้มีลักษณะขาวขุ่นคล้ายน้ำนมข้นเหนียวและมีกลิ่นคาว ซึ่งสอดคล้องกับ เมฆ (2525) และ นลินี (2526) ปลาส่วนใหญ่จะมีปริมาณน้ำเชื้อแปรผันตามน้ำหนักตัว ($r = 0.685$) (ภาพที่ 1) เนื่องจากการสร้างน้ำเชื้อของปลาจะพัฒนาพร้อมกับการเจริญเติบโตจนกระทั่งมีความสมบูรณ์เพศเต็มที่ (ศักดิ์ชัย, 2538) แต่มีปลาตะเพียนขาวบางตัวที่มีปริมาณน้ำเชื้อไม่แปรผันตามน้ำหนักตัวซึ่งอาจจะเกิดจากปลาที่มีการเจริญเติบโตไม่ดีหรือแคระแกร็น แต่มีอายุอยู่ในวัยเจริญพันธุ์ที่สามารถสร้างน้ำเชื้อได้ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ยเท่ากับ 7.04 ± 0.33 ใกล้เคียงกับนลินี และคณะ (2536) ที่รายงานว่าน้ำเชื้อปลาตะเพียนมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 7.3 ± 0.11 ค่าการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 87.50 ± 2.61 เปอร์เซ็นต์ เป็นการเคลื่อนไหวของอสุจิที่อยู่ในระดับสูง (กฤษณ์, 2535) ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิเฉลี่ย $2,7170 \times 10^6 \pm 6,958.41 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นไม่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในยุโรป ที่เป็นปลาที่อยู่ในครอบครัว Cyprinidae เหมือนกัน แต่มีความเข้มข้นของอสุจิเฉลี่ย $140,000 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร (เกรียงศักดิ์, 2540) เพราะปลาทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างทางด้านพฤติกรรมและแหล่งที่อยู่อาศัย (Boncari, 1983) อสุจิที่มีชีวิตเฉลี่ย 98 ± 1.04 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2) อสุจิที่มีลักษณะปกติเฉลี่ย 94.75 ± 2.8 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนหัวเฉลี่ย 1.45 ± 0.33 ไมครอน และมีความยาวหางเฉลี่ย 15.58 ± 1.5 ไมครอน ลักษณะส่วนหัวของเซลล์อสุจิมีลักษณะกลม ซึ่งสอดคล้องกับ Billard (1981) ที่รายงานว่าเซลล์อสุจิปลาตะเพียน มีลักษณะส่วนหัวที่กลมแต่มีเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่าเซลล์อสุจิปลาตะเพียนขาวที่ประเมิน คือ 2 ไมครอน เพราะเป็นปลาตะเพียนที่มีความแตกต่างด้านสายพันธุ์และแหล่งที่อยู่อาศัย สำหรับเซลล์อสุจิที่ผิดปกติส่วนหัวจะมีขนาดใหญ่เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 2.83 ± 0.68 ไมครอน หรือมีส่วนหางที่ผิดปกติ คือ ส่วนหางขาดหาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลำปาง

การประเมินคุณภาพน้ำเขื่อนปลาไน

ผลจากการศึกษาการประเมินคุณภาพน้ำเขื่อนปลาไนที่แสดงในตารางที่ 1 พบว่า ปลาไนมีน้ำหนักเฉลี่ย 451.6 ± 273.315 กรัม ความยาวเฉลี่ย 29.36 ± 5.21 เซนติเมตร เป็นขนาดที่มีความสมบูรณ์เพศ สอดคล้องกับ สักคีชัย(2538) ที่รายงานว่าปลาไนที่มีความสมบูรณ์เพศมีขนาดตั้งแต่ 100 กรัมขึ้นไป มีปริมาณน้ำเชื้อเฉลี่ย 1.47 ± 1.32 มิลลิลิตร น้ำเชื้อมีลักษณะขาวขุ่นคล้ายน้ำนม และมีกลิ่นคาวจัด สอดคล้องกับปริดา (2530) กล่าวว่าน้ำเชื้อปลาไนมีสีขาวคล้ายน้ำนม ปลาส่วนใหญ่มักจะมีปริมาณน้ำเชื้อแปรผันตามน้ำหนักตัว ($r = 0.717$) (ภาพที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับ วีระชัย (2535) ที่รายงานว่า ปลาขนาดใหญ่จะให้ปริมาณน้ำเชื้อมากกว่าปลาขนาดเล็ก เนื่องจากการสร้างน้ำเชื้อของปลาจะพัฒนาพร้อมกับการเจริญเติบโตจนกระทั่งมีความสมบูรณ์เพศเต็มที่ (สักคีชัย, 2538) แต่มีปลาไนบางตัวที่มีปริมาณน้ำเชื้อไม่แปรผันตามน้ำหนักตัวซึ่งอาจจะเกิดจากปลามีการเจริญเติบโตไม่ดีหรือแคะแกระ็น แต่มีอายุอยู่ในวัยเจริญพันธุ์ที่สามารถสร้างน้ำเชื้อได้ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อเท่ากับ 7 สอดคล้องกับ Gvest และคณะ (1996) ที่รายงานว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อปลาส่วนใหญ่จะอยู่ระหว่าง 6.5-7.5 การเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 88.5 ± 2.41 เปอร์เซ็นต์ เป็นการเคลื่อนไหวของอสุจิในระดับสูง (กฤษณ์, 2535) ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิเฉลี่ย $31,708 \times 10^6 \pm 13,622.80 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร มีค่าต่ำกว่าปลาไนยุโรปที่นิคซอร์โมนจากต่อมได้สมองซึ่งมีความเข้มข้นของอสุจิเฉลี่ย $240,000 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร เพราะการนิคซอร์โมนจะกระตุ้นให้ปลาสร้างน้ำเชื้อเพิ่มมากขึ้น (อุทัยรัตน์, 2535) อสุจิที่มีชีวิตเฉลี่ย 97.1 ± 1.28 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4) อสุจิที่มีลักษณะปกติเฉลี่ย 91.2 ± 2.34 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางส่วนหัวเฉลี่ย 1.8 ± 0.25 ไมครอน และความยาวหางเฉลี่ย 18.6 ± 3.56 ไมครอน ลักษณะของเซลล์อสุจิส่วนหัวจะกลม ซึ่งสอดคล้องกับลินี(2527) ที่รายงานว่าขนาดส่วนหัวของปลาไนมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 2 ไมครอนซึ่งใหญ่กว่าปลาตะเพียนขาว เซลล์อสุจิที่ผิดปกติส่วนหัวมีขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4.1 ± 0.18 ไมครอน หรือมีส่วนหางที่ผิดปกติ คือ ส่วนหางขาดหาย

การประเมินคุณภาพน้ำเขื่อนปลาอุกอุย

ผลการศึกษาการประเมินคุณภาพน้ำเขื่อนปลาอุกอุยที่แสดงในตารางที่ 1 พบว่าปลาอุกอุยมีน้ำหนักเฉลี่ย 119.46 ± 33.61 กรัม ความยาวเฉลี่ย 26.24 ± 2.50 เซนติเมตร มีน้ำหนักอวัยวะเฉลี่ย 0.48 ± 0.49 กรัม มีดัชนีความสมบูรณ์เพศเท่ากับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ซึ่งสูงกว่าดัชนีความสมบูรณ์เพศของปลา *Channel catfish* ที่ Guest และคณะ(1976) รายงานว่าปลาอุก (*Channel catfish*) มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่จะเสียค่าใช้จ่าย
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครอบขีความสมบูรณ์เพศ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ปลาส่วนใหญ่จะมีอวัยวะแปรผันตามน้ำหนักตัว ($r = 0.743$) (ภาพที่ 5) เนื่องจากการพัฒนาของอวัยวะจะพัฒนาพร้อมกับการเจริญเติบโต จนกระทั่งมีความสมบูรณ์เพศเต็มที่ (ศักดิ์ชัย, 2538) แต่มีปลา कुछ ขอบบางตัวที่มีน้ำหนักอวัยวะไม่แปรผันตามน้ำหนักตัว อาจเกิดจากปลาที่มีการเจริญเติบโตไม่ดีหรือแคระแกร็น แต่มีอายุอยู่ในวัยเจริญพันธุ์ที่สามารถพัฒนาให้อวัยวะมีความสมบูรณ์ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อเท่ากับ 6.5 ซึ่งสอดคล้องกับ Guest และคณะ (1976) ที่รายงานว่า ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 6.5-7.5 การเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 70.76 ± 8.62 เปอร์เซ็นต์ เป็นการเคลื่อนไหวของอสุจิที่อยู่ในระดับที่ดี (กฤษณ์, 2535) แต่อยู่ระดับที่ต่ำกว่าการเคลื่อนไหวของอสุจิปลาตะเพียนขาวและปลาไน เพราะว่าการบดขยี้อวัยวะกับน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ จะมีเลือด และเศษเนื้อปนในน้ำเชื้อ ส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อด้อยลง (อุทัยรัตน์, 2535) ความเข้มข้นของอสุจิเฉลี่ยเมื่อขยี้อวัยวะผสมกับน้ำเกลือ 1 มิลลิลิตร $1887 \times 10^6 \pm 1,759 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร อสุจิที่มีชีวิตเฉลี่ย 79.69 ± 6.47 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6) อสุจิที่มีลักษณะปกติเฉลี่ย 83 ± 3.8 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนหัวจะมีลักษณะกลมรี ความกว้างเฉลี่ย 1.07 ± 0.31 ไมครอน มีความยาว 1.72 ± 0.31 ไมครอน และมีความยาวหางเฉลี่ย 17.69 ± 3.39 ไมครอน เซลล์อสุจิที่ผิดปกติส่วนหัวมีขนาดใหญ่ ความกว้างเฉลี่ย 2.53 ± 0.32 ไมครอน ความยาวเฉลี่ย 3.34 ± 0.49 ไมครอน หรือมีส่วนหางที่ผิดปกติ คือ ส่วนหางขาดหาย

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยขนาดปลา ปริมาณน้ำเชื้อ และคุณภาพน้ำเชื้อของปลาตะเพียนขาว ปลาไนและปลาดุกอุย

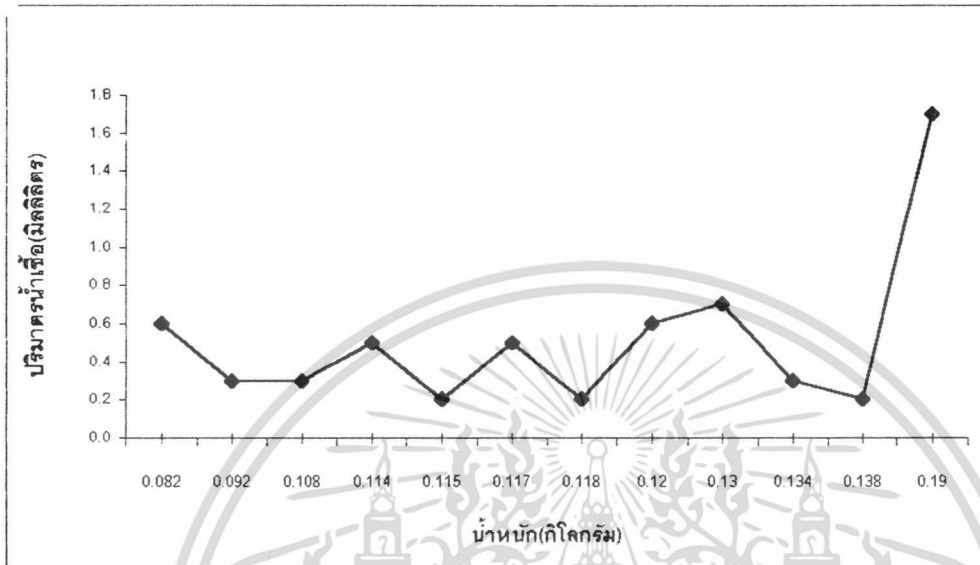
ชนิดปลา	ปลาตะเพียนขาว	ปลาไน	ปลาดุกอุย
1. น้ำหนักตัวปลา (กรัม)	121.5±26.86	451.6±273.15	119.46±33.61
2. ความยาว (เซนติเมตร)	20.49±1.73	29.36±5.218	26.24±2.51
3. น้ำหนักอวัยวะ (กรัม)	-	-	0.48±0.49
4. ปริมาณน้ำเชื้อ (มิลลิลิตร)	0.5±0.41	1.49±1.32	-
5. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	7.04±0.33	7	6.5
6. ความเข้มข้นของอสุจิ (x10 ⁶ เซลล์/มิลลิลิตร)	27170±6958.41	31708±13622.80	1887.65±1759.77**
7. จำนวนเซลล์อสุจิต่อน้ำหนักอวัยวะ (x10 ⁶ เซลล์/กรัม)	-	-	4676.58±2083.23
8. การเคลื่อนไหวของอสุจิ (เปอร์เซ็นต์)	87.50±2.61	88.5±2.41	70.76±8.62
9. อสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	98±1.04	97.1±1.28	79.69±6.47
10. อสุจิที่มีลักษณะปกติ (เปอร์เซ็นต์)	94.75±2.8	91.2±2.34	83±3.8
10.1 ขนาดของส่วนหัว (ไมครอน)	1.45±0.33	1.8±0.25	1.07±0.18 ^ก
10.2 ขนาดของส่วนหาง (ไมครอน)	15.58±1.50	18.6±3.56	1.72±0.31 ^ข **

** ความเข้มข้นอสุจิปลาดุกอุยเมื่อใช้น้ำเกลือ 1 มิลลิลิตร

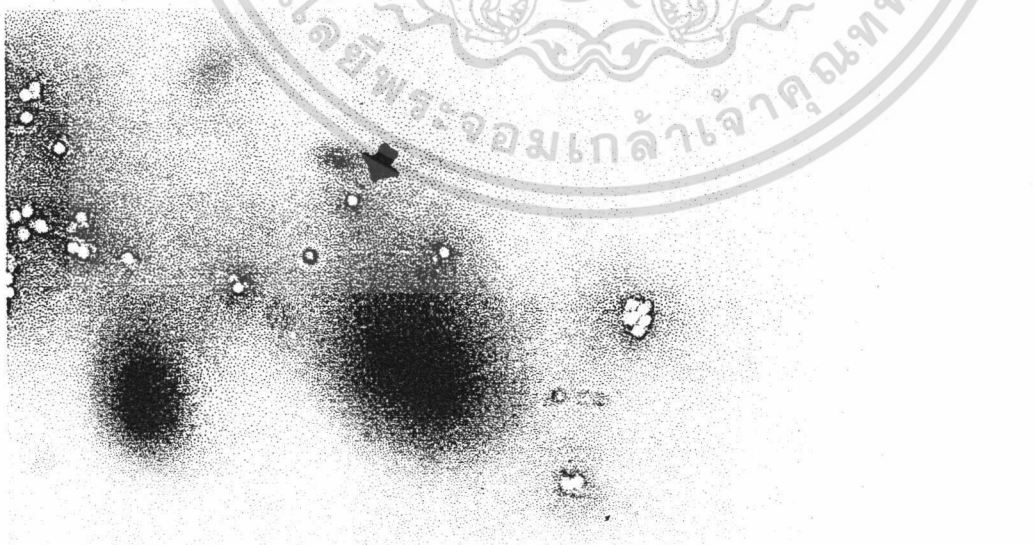
^ก ความกว้างของส่วนหัวเซลล์อสุจิปลาดุกอุย

^ข ความยาวของส่วนหางเซลล์อสุจิปลาดุกอุย

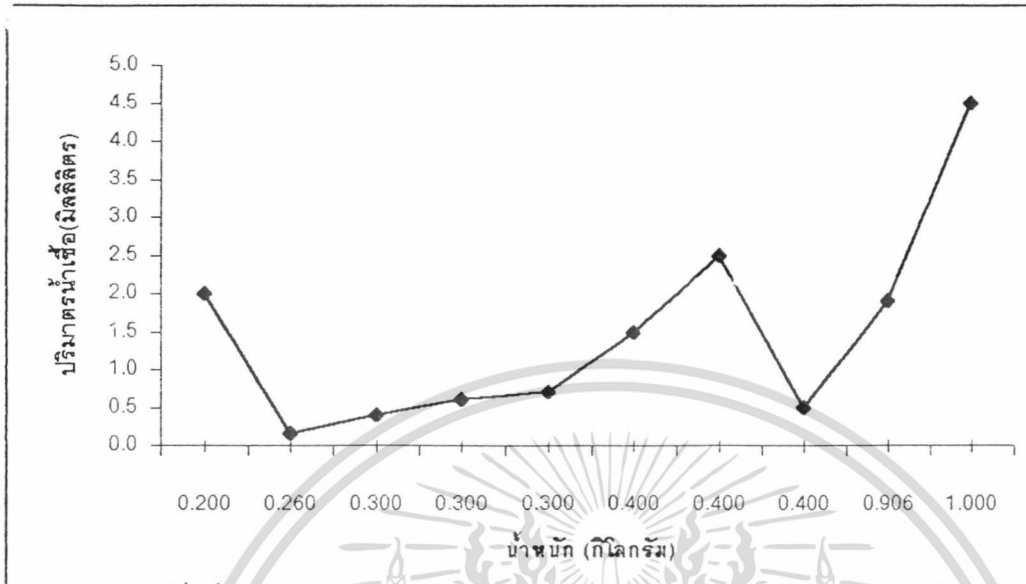
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



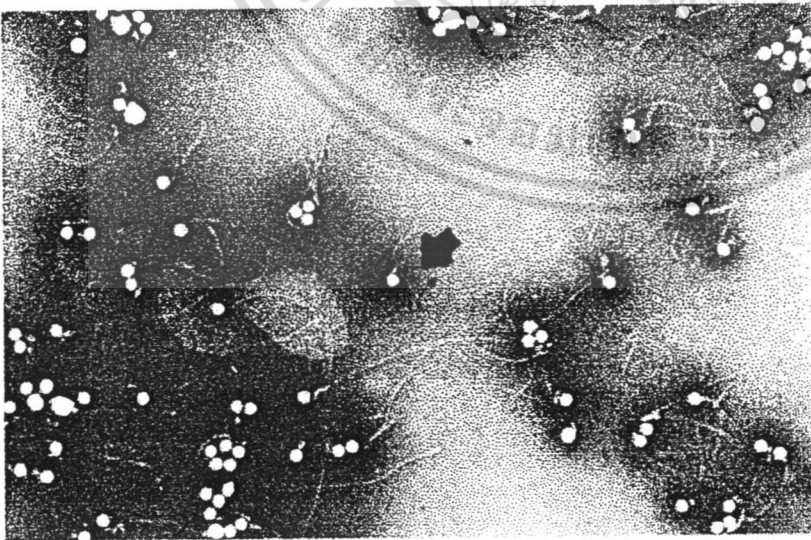
ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ของน้ำหนักตัวกับปริมาณน้ำเชื้อในปลาคะเพียนขาว



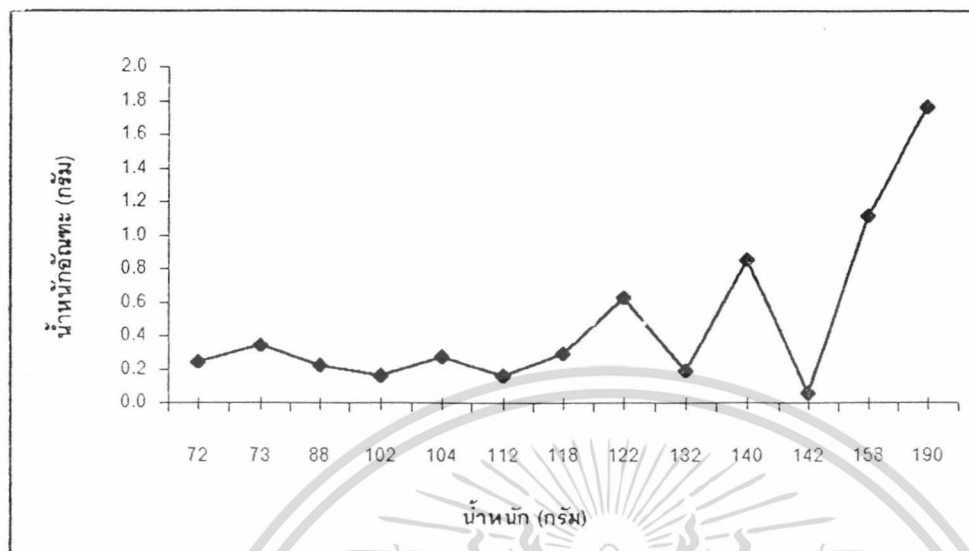
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ภาพที่ 2 ลักษณะของเซลล์อสุจิปลาคะเพียนขาว (กำลังขยาย 100x)
 ไม่วากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



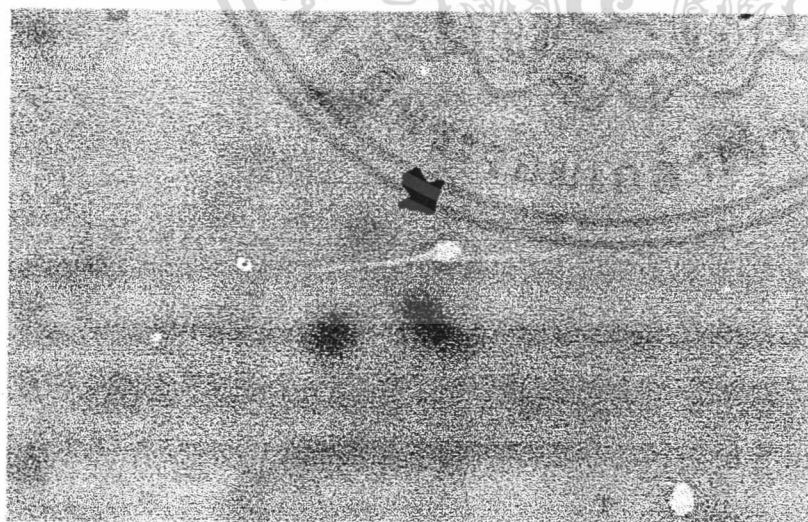
ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ของน้ำหนักตัวกับปริมาณน้ำเชื้อในปลาไน



ภาพที่ 4 ลักษณะของเซลล์สุจิปลาไน (กำลังขยาย 100x) เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ของน้ำหนักตัวปลา กับน้ำหนักกักตุนในปลาตากอูย



ภาพที่ 6 ลักษณะของเซลล์อูยปลาตากอูย (กำลังขยาย 100x)
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรู๊ปงานในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาคูอุย ในด้านการเคลื่อนไหวของอสุจิ ความเข้มข้นของอสุจิ รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิ อสุจิที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ ผลปรากฏว่า

1. น้ำเชื้อของปลาตะเพียนขาวมีการเคลื่อนไหวของอสุจิ 87.5 ± 2.61 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของอสุจิ $27,170 \times 10^6 \pm 6,958.41 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิมีส่วนหัวที่กลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.45 ± 0.33 ไมครอนหางมีความยาว 15.58 ± 1.5 ไมครอน อสุจิที่มีชีวิต 98 ± 1.04 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ 7.04 ± 0.33

2. น้ำเชื้อของปลาไนมีการเคลื่อนไหวของอสุจิ 88.5 ± 2.41 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของอสุจิ $31,708 \times 10^6 \pm 13,622.80 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิมีส่วนหัวที่กลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.80 ± 0.25 ไมครอนหางมีความยาว 15.58 ± 3.56 ไมครอน อสุจิที่มีชีวิต 97 ± 1.28 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ 7

3. น้ำเชื้อของปลาคูอุยมีการเคลื่อนไหวของอสุจิ 70.76 ± 8.62 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของอสุจิเมื่อชั่งยี่ห้อผสมกับน้ำเกลือ 1 มิลลิลิตร $1887 \times 10^6 \pm 1,759 \times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร รูปร่างลักษณะของเซลล์อสุจิมีส่วนหัวที่กลมรีมีความกว้าง 1.07 ± 0.18 ไมครอน มีความยาว 1.72 ± 0.31 ไมครอนหางมีความยาว 17.69 ± 3.39 ไมครอน อสุจิที่มีชีวิต 79.69 ± 6.47 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อ 6.5

ข้อเสนอแนะ

1. การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลา ผู้ประเมิน ต้องมีความชำนาญ และแม่นยำในการประเมิน
2. การประเมินการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ ต้องประเมินอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเซลล์อสุจิที่ถูกน้ำกลั่นกระตุ้นจะเคลื่อนที่อย่างรวดเร็ว ในระยะเวลาประมาณ 1 นาทีจะหยุดการเคลื่อนไหวทำให้ไม่สามารถประเมินการเคลื่อนไหวได้
3. สไลด์ที่ย้อมด้วยสี Eosin-Nigrosin เพื่อประเมินตัวเป็นตัวตาย ต้องเก็บไว้ในที่ มีความชื้นน้อย เพราะความชื้นสูงทำให้สีย้อมซึม เข้าไปในเซลล์อสุจิ



เอกสารอ้างอิง

- กฤษณ์ มงคลปัญญา และทัศนีย์ ภูมิพัฒน์. 2535. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง. วารสารการประมง 45(6) : 111 – 122.
- กฤษณ์ มงคลปัญญา. 2536. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 128 น.
- เกรียงศักดิ์ มั่งอำพัน, Stein H. และ E. Mathes. 2537. การเพาะขยายพันธุ์ปลา จากน้ำเชื้อแช่แข็งในสูตรต่าง ๆ กัน. วารสารการประมง 48(6) : 509 – 516.
- เกรียงศักดิ์ มั่งอำพัน. 2540. คุณภาพของอสุจิสด และอัตราการผสมของไข่ปลาในยุโรปโดยน้ำเชื้อแช่แข็ง. วารสารการประมง 50(1) : 49 – 53.
- เจดั่น อมาตยกุล. 2538. ปลาอุก. กองประมงน้ำจืด. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 64 น.
- นลินี มารคแมน. 2527. การศึกษาเบื้องต้นกรรมวิธีการเก็บน้ำเชื้อปลาโดยวิธีแช่แข็ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วนิศา ไชยรักษ์. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาคูอุย โดยวิธีแช่แข็ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- วิทย์ ชารชนานุกิจ. 2522. การเพาะและขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 300 น.
- วิทย์ ชารชนานุกิจ. 2522. การเพาะและขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 300 น.
- ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2530. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. โอ.เอส. พรินติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 223 น.
- ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2538. การเพาะและอนุบาลปลาน้ำจืด. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 191 น.
- อุทัยรัตน์ วัฒน. 2535. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 239 น.
- Amrit, N. 1998. Cryopreservation of Blue Catfish spermatozoa and subsequent fertilization of Channel Catfish eggs. Transactions of the American – fisheries Society. 127 : 819 – 824.
- Billard, R. 1998. Artificial ; insemination and gamete management in fish. Mar. Behav. Physiol. 14 : 3 – 21.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Cognie, P.E., R. Billard, and N.H. Cho. 1989. La cryopreservation Dela Laitance Del a Carpe, *Cyprinus carpio*. 5. Appl. Ichthyo. 5 : 165 – 176.
- Goodal, J.A., A.W. Blackshaw and M.F. Capria. 1988. Factors affecting the activation and duration of sperm motility of the spermatozoa of the Summer Whiting *Sillago cilliata*. *Aquaculture*. 77 : 243 – 250.
- Hofgins, H. and R. Billard. 1998. Cryopreservation of Salmon sperm. *Aquaculture*. 36:287-273.
- Kurokura, H., R. Hirano., M. Tomita and M. Iwanashi. 1988. Cryopreservation of carp sperm. *Aquaculture*. 37 : 267 – 273.
- Lahnsteiner, F., T. Weismann, and R.A. Patzner. 1991. Fine structural changes in spermatozoa of the grayling, *Thymallus thymallus*, during routine cryopreservation. *Aquaculture*. 103 : 73 – 84.
- Lahnsteiner, F. and R.A. Patzner. 1992. A new method for electron microscopical fixation of spermatozoa of fresh water loosts. *Aquaculture*. 97:301-304.
- Rana, K.J., and B.J. McAndrew. 1989. The viability of cryopreserved Tilapia spermatozoa. *Aquaculture*. 76:335-345.
- Rex A. Dunham., A.N. Bart, and H. Kueuktas. 1999. Effects of fertilization method and of selection for body weight and species on fertilization efficiency of Channel Catfish eggs with Blue or Channel catfish sperm, *North American Journal of Aquaculture*. 61:156-161.
- Saac, A., R. Billard., M.C. Theran, and M.G. Holluberog. 1988. Short-Term preservation of *Cyprinus Carpio* semen. *Aquaculture*. 71:133-150.
- Steyn, G., J. Van Vuren, and E. Groblie. 1989. A new sperm diluted for artificial insemination of rainbow trout (*salmo gairdneri*). *Aquaculture*. 83:367-374.
- Willam, D., N. Hollerman, and E. C. Boyd. 1985. Effects of annual draining on water quality and production of Channel Catfish in ponds. *Aquaculture*. 46:45-54.
- Young, J.A., M.F. Capra, and A.W. Blackshaw. 1993. Cryopreservation of sommer whiting (*Sillago cilliata*) spermatozoa. *Aquaculture*. 102:155-160.

ภาคผนวก

วิธีการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว ปลาไน และปลาคูกอุย

1. ชั่งวัด ความยาวและน้ำหนักของปลา
2. รีดน้ำเชื้อปลา
 - 2.1 ปลาตะเพียนขาว และปลาไน เช็ดตัวปลาให้แห้งด้วยผ้าสะอาดใช้หัวแม่มือรีดน้ำเชื้อบริเวณท้อง ไล่หลอดแก้วที่เตรียมไว้
 - 2.2 ปลาคูกอุย เป็นปลาที่มีน้ำเชื่อน้อย จึงผ่าท้องนำ testis มาห่อด้วยผ้ากรองแล้วในน้ำเกลือเจือจาง 0.9%
3. วัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างน้ำเชื้อปลาด้วยกระดาษลิตมัส
4. ประเมินอัตราการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์
 - 4.1 หยดน้ำเชื้อบนสไลด์ (หยดให้บางที่สุด)
 - 4.2 หยดน้ำกลั่นเพื่อกระตุ้นอสุจิ ปิดด้วย coverglass
 - 4.3 ประเมินการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิ เป็นเปอร์เซ็นต์ โดยสุ่มบริเวณที่เซลล์อสุจิเคลื่อนที่ใน 100 ตัว มีการเคลื่อนไหวกี่ตัว
5. ประเมินตัวเป็นตัวตายของเซลล์อสุจิ และวัดขนาดของหัวและหางของเซลล์อสุจิ
 - 5.1 หยดน้ำเชื้อ 1 หยดบนสไลด์ หยดสีย้อม Eosin-Nigrosin ลงบนน้ำเชื้อ คนน้ำเชื้อและสีย้อมผสมกันและสเมียร์เป็นฟิล์มบางๆ fix ด้วยความร้อน
 - 5.2 ทิ้งไว้สักครู่ และนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 100 เท่า เพื่อตรวจเปอร์เซ็นต์ตัวเป็นตัวตายและวัดขนาดเซลล์อสุจิ

ส่วนประกอบของสีย้อม Eosin-Nigrosin คือ Eosin B 1 g Nigrosin 5 กรัม ละลายในไฮเดียมซเตรตไดไฮเดคตท 29% (สัคคีซัย, 2538)

การประเมินตัวเป็นตัวตายของเซลล์อสุจิ (live-dead sperm) จะอาศัยหลักการย้อมสีซึ่ง Eosin-Nigrosin มีคุณสมบัติของสารคือ Eosin เป็นสีย้อมพิเศษ ไม่สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ตัวอสุจิที่มีชีวิต แต่สามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์อสุจิที่ตายให้เห็นเป็นสีชมพู ส่วน Nigrosin จะทำให้พื้นสไลด์ติดสีเข้ม จึงสามารถมองเห็นตัวอสุจิที่มีชีวิต ซึ่งจะไม่ติดสีของ Eosin จึงมองเห็นเป็นสีขาว สำหรับเซลล์อสุจิไม่มีชีวิตจะมีสีชมพู

6. ประเมินความหนาแน่นของเซลล์อสุจิ (sperm concentration)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 6.1 นำไปแปลเจืองาน้ำเชื้อ (เจืองาน 1/200) ดูคนน้ำเชื้อถึงจุด 0.5 และดูคนน้ำเกลือ 0.9% จนถึงขีด 101
- 6.2 เขย่าปิปเปตให้น้ำเชื้อผสมกับน้ำเกลือ โดยใช้หัวแม่มือและนิ้วชี้อุคปลายทั้ง 2 ข้าง
- 6.3 ปลดอยส่วนผสมทิ้ง 4-5 หยด
- 6.4 นำน้ำเชื้อที่เจืองานแล้ว ไปหยดบนสไลด์ Hemacytometer นำมาตรวจด้วยวิธี Neubauer

คำนวณ

ความเข้มข้นของอสุจิ = จำนวนเซลล์อสุจิ \square 5 ช่อง \times 50,000 \times อัตราการเจืองานหน่วยเซลล์/มิลลิลิตร

ตารางผนวกที่ 1 ค่าครรหณีความสมบูรณ์เพศ (gonosomatic index) ของปลาอุกอุย

ปลาตัวที่ 1	น้ำหนักปลา (กรัม)	น้ำหนักอวัยวะ (กรัม)	Gonosomatic index
1	190	1.76	0.92
2	158	1.11	0.70
3	140	0.85	0.60
4	93	0.34	0.46
5	122	0.63	0.51
6	104	0.27	0.25
7	102	0.16	0.15
8	142	0.06	0.04
9	132	0.19	0.14
10	118	0.29	0.24
11	112	0.16	0.14
12	88	0.22	0.25
13	92	0.24	0.33
เฉลี่ย	119.46	0.48	0.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 คุณภาพน้ำเชื้อปลาดูเพียนขาว

ปลาดูที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	ค่าเฉลี่ย±SD
1. น้ำหนักตัวปลา (กรัม)	114	190	115	130	117	138	118	120	92	82	134	108	121.5±26.86
2. ความยาวตัวปลา (เซนติเมตร)	21.1	24.7	20.3	20.9	20	22	21.4	19.5	19	18	19.5	19.5	20.49±1.73
3. ปริมาณน้ำเชื้อ (มิลลิลิตร)	0.5	1.7	0.2	0.7	0.5	0.2	0.2	0.6	0.3	0.6	0.3	0.3	0.50±0.41
4. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	7	7	7	7	7	7	6.5	7	7	7	7	8	7.04±0.33
5. ความเข้มข้นอสุจิ (x10 ⁶ เซลล์/ มิลลิลิตร)	28540	27210	30190	19950	29400	12980	20460	27860	28900	25610	37310	37630	27170±6958.4
6. Motility (เปอร์เซ็นต์)	85	85	85	85	90	85	85	90	90	90	90	90	87±2.61
7. อสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	99	98	97	99	99	98	99	98	97	97	99	96	98±1.34
8. อสุจิที่มีลักษณะปกติ (เปอร์เซ็นต์)	96	98	96	95	95	97	98	94	92	93	95	88	94.75±2.80
8.1 ขนาดของส่วนหัว (ไมครอน)	1.5	1	1.5	1.5	1	1.5	1	2	1.5	2	1.5	1.5	1.45±0.33
8.2 ขนาดของความยาวหาง (ไมครอน)	18	15	18	16	15	14	16	16	14	17	14	14	15.58±1.50

ตารางผนวกที่ 3 คุณภาพน้ำเชื้อปลาใน

ปลาตัวที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	ค่าเฉลี่ย±SD
1. น้ำหนักตัวปลา (กรัม)	260	906	200	300	400	400	400	1000	300	350	451±273.15
2. ความยาวตัวปลา (เซนติเมตร)	25	37	25	25.5	29.2	28	27.5	40.5	27.5	28.4	29.36±5.21
3. ปริมาตรน้ำเชื้อ (มิลลิลิตร)	0.15	1.9	2.0	0.4	1.5	2.5	0.5	4.5	0.6	0.7	1.4±1.32
4. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
5. ความเข้มข้นอสุจิ ($\times 10^6$ เซลล์/ มิลลิลิตร)	19340	23930	49050	45450	45450	18760	22570	20120	22930	49480	31708±13622.80
6. Motility (เปอร์เซ็นต์)	90	90	85	90	90	85	90	85	90	90	88.5±2.41
7. อสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	96	95	98	96	98	99	97	96	98	98	97.1±1.25
8. อสุจิที่มีลักษณะปกติ (เปอร์เซ็นต์)	89	92	94	90	91	89	96	92	90	89	91.2±2.34
8.1 ขนาดของส่วนหัว (ไมครอน)	2.0	2.0	2.0	2.0	1.5	1.5	1.5	2.0	2.0	2.0	1.8±0.25
8.2 ขนาดของความยาวหาง (ไมครอน)	19	22	23	19	15	14	15	22	22	15	18.6±3.56

ตารางผนวกที่ 4 คุณภาพน้ำเชื้อปลาดุกอุย

ปลาตัวที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	ค่าเฉลี่ย±SD
1. น้ำหนักตัวปลา (กรัม)	190	158	140	93	122	104	102	142	132	118	112	88	72	119.46±33.61
2. ความยาวตัวปลา (เซนติเมตร)	30	29	28	22	29.5	24.7	24.7	28.3	26.4	25	26	23.5	24.1	26.24±2.50
3. น้ำหนักอวัยวะ (กรัม)	1.76	1.11	0.85	0.34	0.63	0.27	0.16	0.06	0.19	0.29	0.16	0.22	0.24	0.48±0.49
4. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5
5. ความเข้มข้นอสุจิเมื่อใช้น้ำเกลือ 1 มิลลิลิตร (x10 ⁶ เซลล์/มิลลิลิตร)	2436	4896	6138	2232	2232	1140	1235	480	874	667	559	855	795.5	1887.65±1759.77
6. จำนวนอสุจิต่อน้ำหนักอวัยวะ (x10 ⁶ เซลล์/กรัม)	1384.	4410.	7221.	6564.	3542.	4222.	7718.	8000	4600	2300	3493.	4022.	3314.	4676.58±2083.23
7. Motility (เปอร์เซ็นต์)	09	81	17	70	85	22	75				75	72	58	
8. อสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์)	70	70	80	70	80	80	80	70	70	70	70	50	60	70.76±8.62
9. อสุจิที่มีลักษณะปกติ (เปอร์เซ็นต์)	79	78	86	81	90	84	82	66	78	75	71	80	86	79.69±6.47
9.1 ขนาดความกว้างส่วนหัว (ไมครอน)	88	86	81	88	83	80	81	82	86	78	82	82	82	83±3.8
9.2 ขนาดของส่วนหัว (ไมครอน)	1.0	1.0	1.0	1.25	0.75	1.0	1.25	1.0	1.25	1.0	1.5	1.0	1.0	1.07±0.18
9.3 ขนาดของความยาวหาง (ไมครอน)	2.0	1.6	1.6	1.5	1.0	1.25	2.0	2.0	1.75	1.75	2.0	2.0	2.0	1.72±0.31
	20.5	19	19	18.5	19	20	14	17	22	22	14	12	13	17.69±3.39

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักปลาตะเพียนขาว (กิโลกรัม) กับปริมาณน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว (มิลลิลิตร)

น้ำหนัก; X_1	ปริมาณน้ำเชื้อ; X_2	X_1^2	X_2^2	X_1X_2
0.114	0.5	0.0129	0.250	0.057
0.190	1.7	0.036	2.890	0.323
0.115	0.2	0.013	0.040	0.023
0.130	0.7	0.016	0.490	0.091
0.117	0.5	0.013	0.250	0.058
0.138	0.2	0.019	0.040	0.027
0.118	0.2	0.013	0.040	0.023
0.120	0.6	0.014	0.360	0.072
0.092	0.3	0.008	0.090	0.027
0.082	0.6	0.006	0.360	0.049
0.134	0.3	0.017	0.090	0.040
0.108	0.3	0.011	0.090	0.032
$\sum X_1$ 1.458	$\sum X_2$ 6.1	$\sum X_1^2$ 0.184	$\sum X_2^2$ 4.990	$\sum X_1 X_2$ 0.825
Mean 0.1215	0.5083			

$$S_{xx} = 0.1845 - (1.458 \times 1.458) / 12 = 0.007$$

$$S_{yy} = 4.99 - (6.1 \times 6.1) / 12 = 1.889$$

$$S_{xy} = 0.8251 - (1.458 \times 6.1) / 12 = 0.083$$

$$b = 0.083 / 0.007 = 11.857$$

$$a = 0.5083 - 11.857 (0.1215) = -0.9323$$

สมการถดถอยเชิงเส้น คือ $\hat{y}_i = -0.932 + 11.857X_i$

$\hat{Y} = 0.685$ หมายถึง น้ำหนักตัวของปลาตะเพียนมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำเชื้อในเชิงบวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำเชื้อปลาดูเคเพียนขาว (มิลลิลิตร) กับความเข้มข้นของ
อสุจิปลาดูเคเพียนขาว (เซลล์/มิลลิลิตร)

น้ำหนัก; X_1	ปริมาณน้ำเชื้อ; X_2	X_1^2	X_2^2	X_1X_2
0.5	28540	0.25	814,531,600	14270
1.7	27210	2.890	740,384,100	46257
0.2	30190	0.040	900,436,100	6038
0.7	19950	0.490	398,002,500	13965
0.5	29400	0.250	864,360,000	14700
0.2	12980	0.040	168,480,400	2596
0.2	20460	0.040	418,611,600	4092
0.6	27860	0.360	776,179,600	16716
0.3	28900	0.090	835,210,000	8670
0.6	25610	0.360	655,872,100	15366
0.3	37310	0.090	1,392,036,100	11193
0.3	37630	0.090	1,416,016,900	11289
ΣX_1 6.1	ΣX_2 326040	ΣX_1^2 4.990	ΣX_2^2 9,391,121,000	Σxy 165152
Mean 0.5083	27170			

$$S_{xx} = 4.990 - (6.1 \times 6.1) / 12 = 1.889$$

$$S_{yy} = 9,391,121,000 - (326040 \times 326040) / 12 = 532614200$$

$$S_{xy} = 165152 - (6.1 \times 326040) / 12 = -585$$

$$b = -585 / 1.889 = -309.687$$

$$a = 27170 - (-309.687) (0.5083) = 27327.413$$

สมการถดถอยเชิงเส้น คือ $\hat{y}_i = 27327.413 + (-309.687) X_i$

$Y = -0.018$ หมายถึง ปริมาณน้ำเชื้อมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของอสุจิปลาดูเคเพียนเป็นเชิงลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักปลาใน (กิโลกรัม) กับปริมาณน้ำเชื้อปลาใน (มิลลิลิตร)

น้ำหนัก; X_1	ปริมาณน้ำเชื้อ; X_2	X_1^2	X_2^2	XY
0.260	0.15	0.0676	0.0225	0.039
0.906	1.9	0.8200	3.6100	1.721
0.200	2.0	0.040	4.00	0.40
0.300	0.4	0.090	0.160	0.120
0.400	1.5	0.1600	2.250	0.60
0.400	2.5	0.1600	6.250	1.00
0.400	0.5	0.1600	0.250	0.20
1.00	4.5	1.000	20.250	4.50
0.300	0.6	0.0900	0.3600	0.180
0.300	0.7	0.1220	0.490	0.245
ΣX_1 4.516	ΣX_2 14.75	2.709	37.642	9.005
Mean 0.451	1.475			

$$S_{xx} = 2.709 - (4.516 \times 4.516) / 10 = 0.669$$

$$S_{yy} = 37.642 - (14.75 \times 14.75) / 10 = 15.885$$

$$S_{xy} = 9.005 - (4.516 \times 14.75) / 10 = 2.343$$

$$b = 3.502$$

$$a = 1.475 - (3.502)(0.451) = 0.1044$$

สมการถดถอยเชิงเส้น คือ $\hat{y}_i = -0.1044 + (3.502) X_i$

$Y = 0.717$ หมายถึง น้ำหนักปลาในมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำเชื้อปลาในในเชิง

บวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำเชื้อปลาไน (มิลลิลิตร) กับความเข้มข้นของอสุจิปลาไน ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร)

ปริมาณน้ำเชื้อ; X_1	ความเข้มข้น อสุจิ; X_2	X_1^2	X_2^2	X_1Y_2
0.15	19340	0.0225	374035600	2901
1.9	23930	3.6100	572644900	45467
2.0	49050	4.00	2405902500	98100
0.4	45450	0.160	2065702500	18180
1.5	45450	2.250	2065702500	68175
2.5	18760	6.250	351937600	46900
0.5	22570	0.250	509404900	11285
4.5	20120	20.250	404814400	90540
0.6	22930	0.360	525784900	13758
0.7	49480	0.490	2448270400	34636
ΣX_1 14.75	ΣX_2 317080	ΣX_1^2 37.642	ΣX_2^2 11724200200	ΣX_1Y_2 429942
Mean 1.475	31708			

$$S_{xx} = 31708 - (14.75 \times 14.75) / 10 = 15.885$$

$$S_{yy} = 11724200200 - (317080 \times 317080) / 10 = 1670227560$$

$$S_{xy} = 429942 - (14.75 \times 317080) / 10 = 37751$$

$$b = -37751 / 15.885 = -2376.518$$

$$a = 31708 - (-2376.518)(1.475) = 35213.364$$

สมการถดถอยเชิงเส้น คือ $\hat{y}_i = 35213.364 + (-2376.518) X_i$

$Y = -0.231$ หมายถึง ปริมาณน้ำเชื้อมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของอสุจิปลาไน

เป็นเชิงลบ

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักปลาคุณูย (กรัม) กับน้ำหนักอัมชะปลาคุณูย (กรัม)

น้ำหนักปลา; X_1	น้ำหนักอัมชะ; X_2	X_1^2	X_2^2	X_1X_2
190	1.76	36100	3.097	334.4
158	1.11	24964	1.232	175.38
140	0.85	19600	0.722	119
73	0.34	5329	0.115	24.82
122	0.63	14884	0.396	76.86
104	0.27	10816	0.072	28.08
102	0.16	10404	0.025	16.32
142	0.06	20164	0.003	8.52
132	0.19	17424	0.036	25.08
118	0.29	13924	0.084	34.22
112	0.16	12544	0.025	17.92
88	0.22	7744	0.048	19.36
72	0.24	5184	0.057	17.28
ΣX_1 1553	6.28	199081	5.912	897.24
Mean 119	0.483			

$$S_{xx} = 199081 - (1553 \times 1553) / 13 = 13557.230$$

$$S_{yy} = 5.912 - (6.28 \times 6.28) / 13 = 2.878$$

$$S_{xy} = 897.24 - (1553 \times 6.28) / 13 = 147.021$$

$$b = 147.021 / 13557.230 = 0.010$$

$$a = 0.483 - (119)(0.010) = -0.707$$

สมการถดถอยเชิงเส้น คือ $\hat{Y}_i = -0.707 + (0.010) X_i$

$Y = 0.743$ หมายถึง ปริมาณน้ำหนักปลาคุณูยมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักอัมชะของปลาคุณูยเชิงบวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ความสัมพันธ์ของน้ำหนักอ๊ฉทะเลปลาตุคอุย (กรัม) กับความเข้มข้นของอสุจิปลาตุคอุย ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร)

น้ำหนักอ๊ฉทะเล; X_1	ความเข้มข้น อสุจิ; X_2	X_1^2	X_2^2	X_1X_2
1.76	2436	3.097	5934096	4287.36
1.11	4896	1.232	23970816	5434.56
0.85	6138	0.722	37675044	5217.3
0.34	2232	0.722	4981824	758.88
0.63	2232	0.155	4981824	1406.16
0.27	1140	0.396	1299600	307.80
0.16	1235	0.072	1525225	197.60
0.06	480	0.025	230400	28.80
0.19	874	0.0036	763876	166.06
0.29	667	0.036	444889	193.43
0.16	559	0.084	312481	89.44
0.22	855	0.025	731025	188.1
0.24	795.5	0.048	632820.25	190.92
ΣX_1 6.28	ΣX_2 24539.5	ΣX_1^2 0.057	ΣX_2^2 83483920.25	ΣX_1X_2 18466.41
Mean 0.483	1887.653			

$$S_{xx} = 5.912 - (6.28 \times 6.28) / 13 = 2.878$$

$$S_{yy} = 83483920.25 - (24539.5 \times 24539.5) / 13 = 37161838.69$$

$$S_{xy} = 18466.41 - (6.28 \times 24539.5) / 13 = 6611.943$$

$$b = 2297.409$$

$$a = 1887.653 - (0.483)(6611.943) = -1305.915$$

$$\text{สมการถดถอยเชิงเส้น คือ } \hat{Y}_i = -1305.915 + (2297.409) X_i$$

$Y = 0.638$ หมายถึง น้ำหนักอ๊ฉทะเลมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของอสุจิปลาตุคอุย

ในเชิงบวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้