

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยวิธีการแช่เย็นและวิธีการแช่แข็ง สามารถใช้เป็นเครื่องมือในการปรับปรุงพันธุ์ และการผลิตสัตว์น้ำโดยวิธีการผสมเทียมได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาชนิดของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ (extender) อัตราส่วนของน้ำเชื้อต่อน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ปลาอุกดำพัน โดยวิธีแช่เย็นและแช่แข็ง และเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิและเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของปลาอุกดำพันที่ได้จากการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็นและน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยแบ่งออกเป็น 5 การทดลองคือ การทดลองที่ 1 และ 2 ศึกษา ผลของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ 5 ชนิดคือ น้ำมะพร้าว, Calcium Free Hank's balanced salt solution (Ca-F HBSS), ไตรโซเดียม ซิเตรท (trisodium citrate), Modified TSU 1 (น้ำมะพร้าว + Ca-F HBSS) และ Modified TSU 2 (น้ำมะพร้าว + ไตรโซเดียม ซิเตรท) เจือจางน้ำเชื้อในอัตรา 1:9 ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ (motility) และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต (viability) ของปลาอุกดำพันที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็นและแช่แข็งตามลำดับ การทดลองที่ 3 และ 4 ศึกษาผลของน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตราส่วนต่างๆ อัตราคือ 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 และ 1:9 ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็นและแช่แข็งตามลำดับ และการทดลองที่ 5 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ และเปอร์เซ็นต์การฟัก โดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง ผลการศึกษาพบว่า Modified TSU 1 เป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่เย็น โดยในชั่วโมงที่ 60 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ ($20.0 \pm 0.0\%$) สูงที่สุด ในขณะที่น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสูตรอื่นๆ มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ น้อยกว่า 10% และในชั่วโมงที่ 120 มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตสูงถึง $69.33 \pm 8.0\%$ ส่วน Ca-F HBSS เป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็ง เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตหลังการละลายสูงที่สุด ($63.0 \pm 5.7\%$) และจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยวิธีแช่เย็นพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตรา 1:1, 1:3 และ 1:5 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางในอัตรา 1:7 และ 1:9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วนต่างกันและเก็บรักษาโดยวิธีแช่แข็ง มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตไม่แตกต่างกัน และผลการทดลองพบว่าน้ำเชื้อแช่แข็งมีอัตราการปฏิสนธิ ($91.5 \pm 4.1\%$) ไม่แตกต่างกับน้ำเชื้อสด ($97.5 \pm 0.4\%$) แต่มีเปอร์เซ็นต์การฟัก ($47.1 \pm 14.2\%$) ต่ำกว่าน้ำเชื้อสด ($75.5 \pm 4.1\%$) ส่วนน้ำเชื้อแช่เย็นมีอัตราการปฏิสนธิ ($81.8 \pm 5.1\%$) และเปอร์เซ็นต์การฟัก (52.4 ± 11.2) ต่ำกว่าน้ำเชื้อสด จากผลการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์หรืออนุรักษ์พันธุกรรมของปลาอุกดำพันได้

Abstract

The development of chilled and cryopreservation techniques can provide management tools for the artificial reproduction and genetic improvement of aquaculture species. The aim of this work was to find out the suitable extender and suitable extender ratio for chilling and cryopreserved *Clarias nieuhofii* sperm. The fertilization capacity and hatching rate of fresh, refrigerated and post-thaw sperm were compared. Five experiments were designed. In experiment 1 and 2, five extenders, Coconut water, Ca-F HBSS, Trisodium citrate, Modified TSU 1 (coconut water mixed with Ca-F HBSS, 1:1) and Modified TSU 2 (coconut water mixed with trisodium citrate, 1:1) were evaluated for motility and viability of refrigerated and cryopreserved sperm respectively. In experiment 3 and 4, five ratios (1:1, 1:3, 1:5, 1:7 and 1:9) of Modified TSU 1 were evaluated for motility and viability of refrigerated and cryopreserved sperm respectively. The fertilization capacity and hatching rate of fresh, refrigerated and post-thaw sperm were compared in experiment 5. The result showed that highest sperm motility ($20.0 \pm 0.0\%$) after 60 hrs of chilling and high sperm viability ($69.33 \pm 8.0\%$) after 120 hrs of chilling were observed in semen diluted in Modified TSU 1 solution, compared to semen diluted in all the other extenders. The highest post-thaw viability ($63.0 \pm 5.7\%$) was obtained when sperm was diluted in Ca-F HBSS solution. There was no significant difference in sperm viability after chilled in different dilution ratios; however, significant differences could be observed in the sperm motility. Significantly lower motility were found with sperm diluted in 1:7 and 1:9. There was no significant difference in post-thaw motility and viability after cryopreservation at different dilution ratios. No difference in fertilization rate was found between fresh and post-thaw sperm, but fertilization was lower with chilled sperm when compared to fresh and cryopreserved sperm. No difference in hatching rate was found between chilled and cryopreserved sperm. The result from these studies can provide management tools for the genetic improvement and the genetic conservation of *Clarias nieuhofii*.