บทที่ 4
ผลการศึกษา

4.1 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของอสุจิทุกๆ 12 ชั่วโมง จนกระทั่งอสุจิหยุดการเคลื่อนที่ หลังจากเจือจางน้ำเชื้อด้วยน้ำยาสูตรต่างๆ ในอัตราน้ำเชื้อ 1 ส่วนต่อน้ำยาเจือจาง 9 ส่วน และเก็บรักษาในตู้เย็น พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อต่างกันและ เวลาในการเก็บรักษาต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิต่างกัน ดัง Table 4.1 ดังต่อไปนี้

ชั่วโมงที่ 12 หลังการแช่เย็น พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิมีค่าอยู่ระหว่าง 26.7 – 70.0% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท (trisodium citrate) มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงที่สุด น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย น้ำมะพร้าว (coconut water) มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิต่ำที่สุด ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS, Modified TSU 1 และ Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ชั่วโมงที่ 24 หลังการแช่เย็น พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิมีค่าอยู่ระหว่าง 16.7 – 43.3% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลาย Ca–F HBSS, Modified TSU 1 และ Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท และน้ำมะพร้าว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ชั่วโมงที่ 36 หลังการแช่เย็น พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิมีค่าอยู่ระหว่าง 10.0 – 26.7% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลาย Ca–F HBSS, Modified TSU 1 และ Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท และน้ำมะพร้าว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ชั่วโมงที่ 48 หลังการแช่เย็น พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิมีค่าอยู่ระหว่าง 3.3 – 23.3% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลาย Ca–F HBSS และ Modified TSU 1 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และมีค่าสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว ไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 2

ชั่วโมงที่ 60 หลังการแช่เย็น พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิมีค่าอยู่ระหว่าง 3.3 – 20.0% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว, Ca–F HBSS ไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 72 หลังการแช่เย็น พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิมีค่าต่ำกว่า 10% ในทุกชุดการทดลอง ยกเว้น น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลาย Modified TSU 1 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิเท่ากับ 10% จนถึงชั่วโมงที่ 84

เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตรที่มีผลต่อการเก็บรักษาปลาดุกลำพันโดยวิธีแช่เย็นพบว่า น้ำเชื้อที่เจือจางในน้ำยาทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษามากขึ้น (Fig. 4.1) ซึ่งน้ำยาแต่ละสูตรมีผลต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิปลาดุกลำพัน ต่างกันดังต่อไปนี้

น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย น้ำมะพร้าว พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงอย่างรวดเร็ว เหลือเพียง 26.7% ในชั่วโมงที่ 12 และลดลงเหลือน้อยกว่า 10% ในชั่วโมงที่ 60 หลังจากนั้นลดลงเรื่อยๆ และหยุดการเคลื่อนที่ในชั่วโมงที่ 108

น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิค่อยๆ ลดลง จาก 75% ในตอนเริ่มต้น ลดลงเหลือ 50.0% และ 40.0% ในชั่วโมงที่ 12 และ 24 ตามลำดับ และลดลงอย่างรวดเร็วเหลือเพียงน้อยกว่า 10% ในชั่วโมงที่ 60 หลังจากนั้นลดลงเรื่อยๆ และหยุดการเคลื่อนที่ในชั่วโมงที่ 120

น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงเพียงเล็กน้อยหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และลดลงอย่างรวดเร็วเหลือเพียง 20.0% ในชั่วโมงที่ 24 หลังจากนั้นเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงเรื่อยๆ และหยุดการเคลื่อนที่ในชั่วโมงที่ 108

น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิค่อยๆ ลดลง มีเปอร์เซ็นต์การลดลงคล้ายกับน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS จนถึงชั่วโมงที่ 48 และยังมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงถึง 20% และ 10% ในชั่วโมงที่ 60, 72 และ 84% ตามลำดับ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรอื่นๆ และหยุดการเคลื่อนที่ในชั่วโมงที่ 120

น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิค่อยๆ ลดลง มีเปอร์เซ็นต์การลดลงคล้ายกับน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS จนถึงชั่วโมงที่ 36 หลังจากนั้นมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดต่ำลงมากเหลือเพียง 3.3% ในชั่วโมงที่ 48 และหยุดการเคลื่อนที่ในชั่วโมงที่ 84

Table 4.1 Motility rate (%) of chilled slender walking catfish sperm diluted in different extenders

Extender	Hour of storage							
	12	24	36	48	60	72	84	96
Coconut water	26.7±5.8^{c}	16.7±5.8^{b}	10.0±0.0^{b}	10.0±0.0^{b}	6.7±5.8^{b}	3.3±5.8^{a}	3.3±5.8^{a}	3.3±5.8^{a}
Ca–F HBSS	50.0±10.0^{b}	40.0±0.0^{a}	23.3±5.8^{a}	20.0±0.0^{a}	6.7±5.8^{b}	6.7±5.8^{a}	6.7±5.8^{a}	3.3±5.8^{a}
Trisodium citrate	70.0±0.0^{a}	20.0±10.0^{b}	13.3±5.8^{b}	10.0±0.0^{b}	6.7±5.8^{b}	6.7±5.8^{a}	6.7±5.8^{a}	3.3±5.8^{a}
Modified TSU 1	50.0±0.0^{b}	43.3±5.8^{a}	26.7±5.8^{a}	23.3±5.8^{a}	20.0±00^{a}	10.0±0.0^{a}	10.0±0.0^{a}	6.7±5.8^{a}
Modified TSU 2	56.7±5.8^{b}	40.0±0.0^{a}	26.7±5.8^{a}	3.3±5.8^{b}	3.3±5.8^{b}	3.3±5.8^{a}	0.0±0.0^{a}	0.0±0.0^{d}

Means within the same column followed by different superscripts are significantly different (P<0.05).

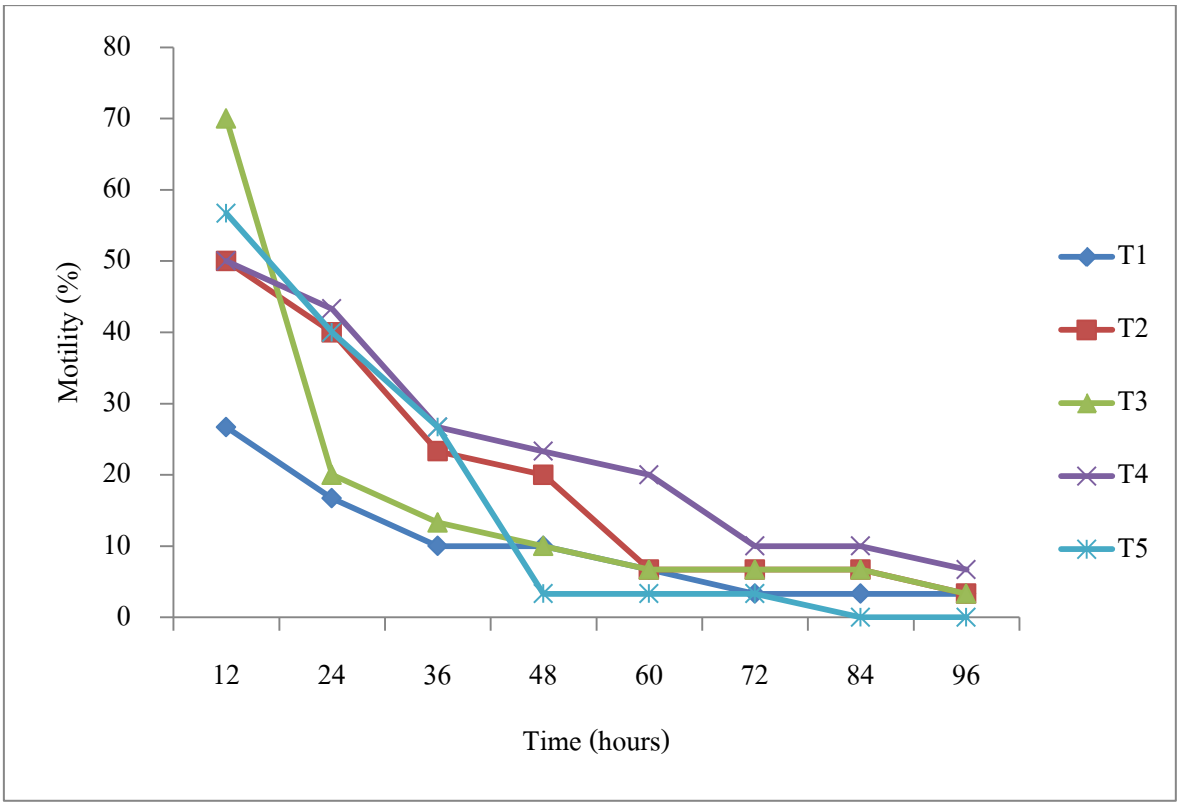

Fig. 4.1 Motility of chilled slender walking catfish sperm diluted in different extenders

4.2 เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรต่างๆ และเก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น

จากการประเมินอสุจิที่มีชีวิตทุกๆ 12 ชั่วโมง หลังจากเจือจางด้วยน้ำยาสูตรต่างๆ และแช่ในตู้เย็น พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสูตรต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตต่างกัน ดัง Table 4.2 ดังต่อไปนี้

ชั่วโมงที่ 12 หลังการแช่เย็น พบอสุจิที่มีชีวิต 75.7 – 96.4% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว, Ca–F HBSS, ไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 1 พบอสุจิที่มีชีวิตมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตต่ำที่สุด

ชั่วโมงที่ 24 หลังการแช่เย็น พบอสุจิที่มีชีวิต 62.3 – 95.0% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS, ไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 1 พบอสุจิที่มีชีวิตมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว พบอสุจิที่มีชีวิตมีค่าต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 แต่มีค่าไม่แตกต่างกับน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS และ ไตรโซเดียม ซิเตรท และมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ชั่วโมงที่ 36 หลังการแช่เย็น พบอสุจิที่มีชีวิต 56.7 – 92.7% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS, ไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 1 พบอสุจิที่มีชีวิตมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วน

น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว พบอสุจิที่มีชีวิตมีค่าต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS, ไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 1 แต่มีค่าสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

ชั่วโมงที่ 48 หลังการแช่เย็น พบอสุจิที่มีชีวิต 48.7 – 91.3% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 มีค่าไม่แตกต่างกับน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย ไตรโซเดียม ซิเตรท แต่มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว Ca–F HBSS และ Modified TSU 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

ชั่วโมงที่ 60 หลังการแช่เย็น พบอสุจิที่มีชีวิต 41.7 – 89.7% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 1 มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตไม่แตกต่างกัน และมีเปอร์เซ็นต์อสุจิสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว Ca–F HBSS และ Modified TSU 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

ชั่วโมงที่ 72 หลังการแช่เย็น มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต 39.0 – 87.3% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 พบอสุจิที่มีชีวิตสูงกว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว และ Ca–F HBSS ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 พบอสุจิที่มีชีวิตมีค่าต่ำที่สุด

ชั่วโมงที่ 84 หลังการแช่เย็น มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต 36.0 – 78.7% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1, น้ำมะพร้าว, Ca–F HBSS และไตรโซเดียม ซิเตรท มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P> 0.05$) ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 พบอสุจิที่มีชีวิตมีค่าต่ำที่สุด

ชั่วโมงที่ 96 หลังการแช่เย็น มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต 33.0 – 79.0% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 และไตรโซเดียม ซิเตรท มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว Ca–F HBSS และ Modified TSU 2

Table 4.2 Viability rate (%) of chilled slender walking catfish sperm diluted in different extenders

Extender	Hours of storage								
	0	12	24	36	48	60	72	84	96
Coconut water	97.5±2.2^{a}	95.7±1.2^{a}	87.3±5.0^{b}	85.0±4.0^{b}	77.7±2.1^{c}	75.0±4.0^{b}	75.3±4.6^{c}	75.0±4.3^{a}	72.7±4.2^{b}
Ca–F HBSS	96.5±2.1^{a}	95.4±2.1^{a}	92.7±2.1^{ab}	91.7±1.5^{a}	81.7±8.7^{bc}	74.0±3.6^{b}	76.0±2.0^{bc}	72.3±3.1^{a}	69.7±2.5^{b}
Trisodium citrate	97.2±1.2^{a}	96.4±1.5^{a}	93.3±1.5^{ab}	90.7±4.0^{a}	86.7±2.5^{ab}	84.7±2.8^{a}	82.3±3.2^{ab}	79.3±3.5^{a}	79.0±4.2^{a}
Modified TSU 1	97.0±1.2^{a}	96.0±1.0^{a}	95.0±2.0^{a}	92.7±2.1^{a}	91.3±1.5^{a}	89.7±1.5^{a}	87.3±4.5^{a}	78.7±5.9^{a}	77.7±2.5^{a}
Modified TSU 2	95.7±2.0^{a}	75.7±2.1^{b}	62.3±4.0^{c}	56.7±2.1^{c}	48.7±1.5^{d}	41.7±2.9^{c}	39.0±2.6^{c}	36.0±1.7^{b}	33.0±1.0^{c}

Means within the same column followed by different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

จากผลการทดลองพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อทุกสูตร มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษามากขึ้นยกเว้นน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตลดลงมากกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรอื่นๆ ดัง Fig. 4.2

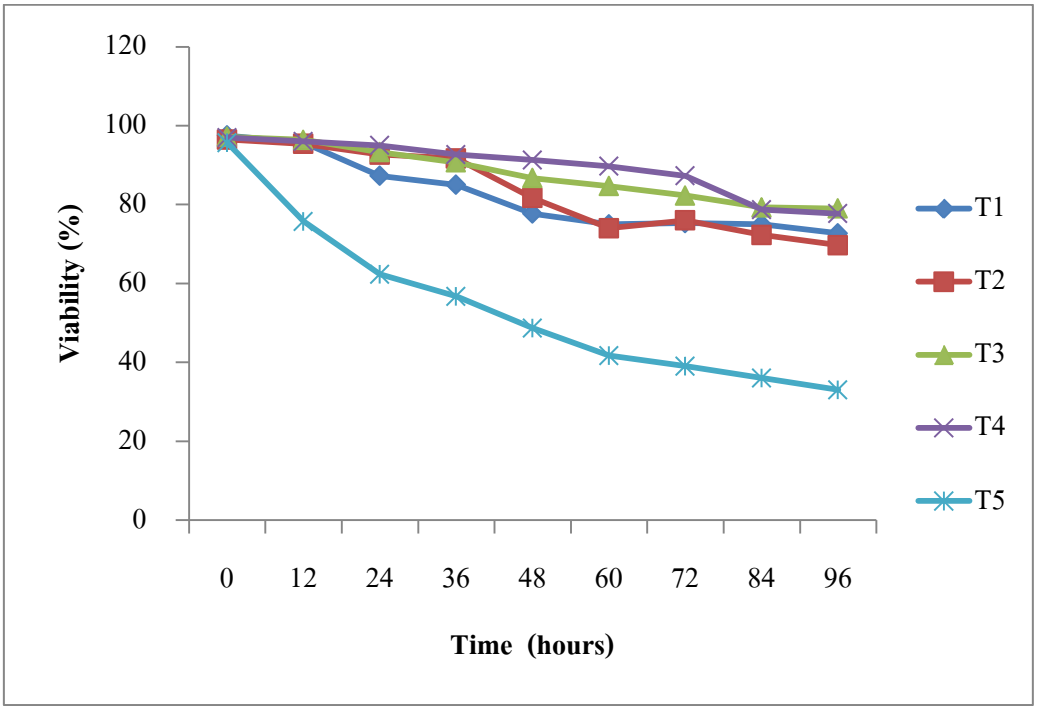

Fig. 4.2 Viability of chilled slender walking catfish sperm diluted in different extenders

4.3 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่แข็ง

จากการทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็ง โดยนำน้ำเชื้อมาเจือจางในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ สูตรต่างๆ จำนวน 5 สูตร ในอัตราความเข้มข้น น้ำเชื้อ 1 ส่วนในน้ำยาเจือจาง 9 ส่วน แล้วเติมสารละลาย DMSO จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 8% บรรจุสารละลายในหลอดฟาง (French straw) เก็บในถังไนโตรเจนเหลว (–196°C) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำหลอดน้ำเชื้อมาละลายในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 1 นาที แล้วทำการประเมินการเคลื่อนที่ของอสุจิ ผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิมีค่าอยู่ระหว่าง 5.0±5.8 – 20.0±8.2 % น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว Ca–F HBSS และ Modified TSU 1 มี เปอร์เซ็นต์การการเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงใน Table 4.3, Fig. 4.3 และ 4.4

เปอร์เซ็นต์มีชีวิตของอสุจิหลังจากการแช่แข็งมีค่าอยู่ระหว่าง 22.5±3.5 – 63.0±5.7% น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของอสุจิสูงที่สุด รองลงมาคือน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว

และ Modified TSU 1 ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของอสุจิน้อยที่สุดดังแสดงใน Table 4.3

Table 4.3 Motility and viability of cryopreserved slender walking catfish semen diluted in different extenders

Extender	Motility (%)	Viability (%)
Coconut water	17.5±5.0[a]	49.5±2.1[b]
Ca–F HBSS	20.0±8.2[a]	63.0±5.7[a]
Trisodium citrate	5.0±5.8[b]	22.5±3.5[c]
Modified TSU 1	17.5±5.0[a]	45.0±7.1[b]
Modified TSU 2	7.5±5.0[b]	28.0±1.4[c]

Means within the same column followed by different superscripts are significantly different (P<0.05)

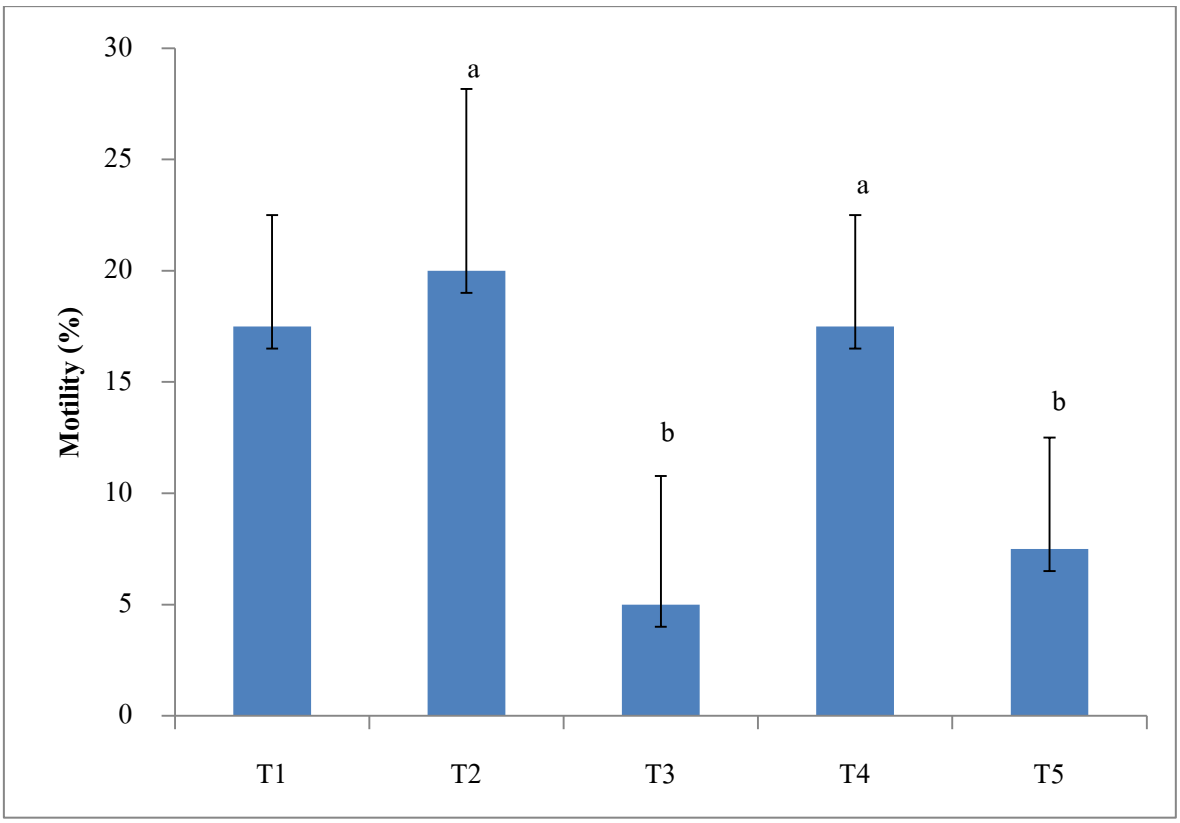

Fig. 4.3 Motility of cryopreserved slender walking catfish sperm diluted in different extenders

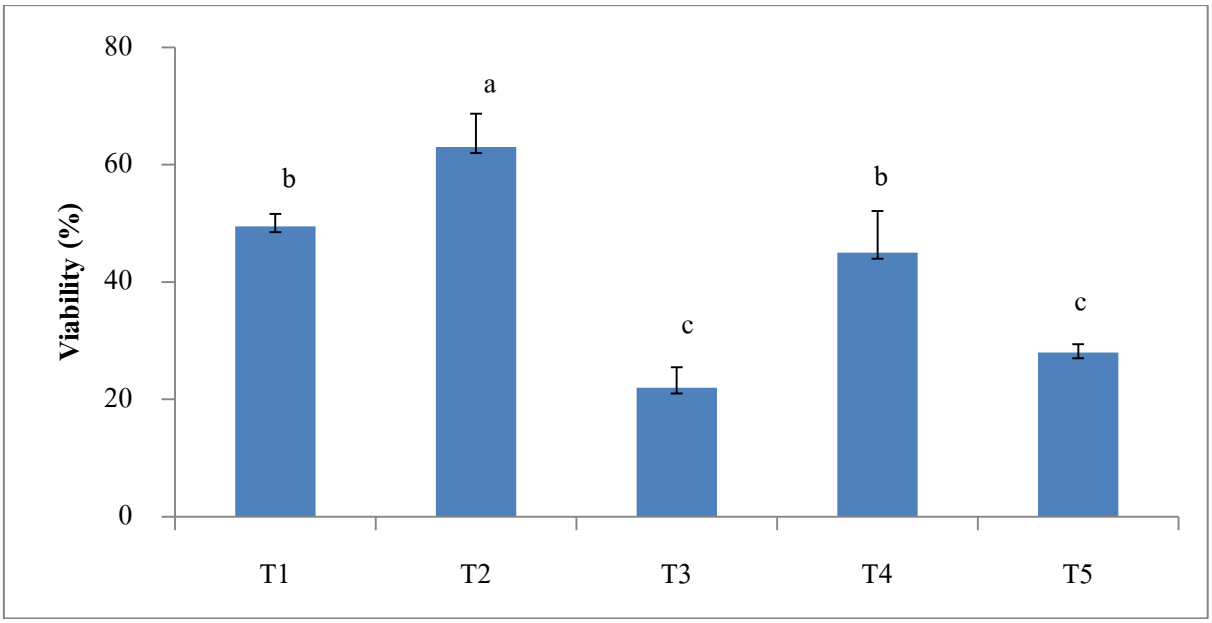

Fig. 4.4 Viability of cryopreserved slender walking catfish sperm diluted in different extenders

4.4 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิที่เจือจางด้วยน้ำยา ในอัตราส่วนต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น

จากการเจือจางน้ำเชื้อปลาดุกลำพันด้วยน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตราต่างกัน 5 ระดับคือ 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 และ 1:9 และประเมินเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ ทุกๆ 12 ชั่วโมง พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วนต่างกัน ณ เวลาต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิแตกต่างกัน ดัง Table 4.4 ดังต่อไปนี้

ชั่วโมงที่ 12 หลังการแช่เย็น พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วนต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีค่าระหว่าง 53.3±5.8 – 56.7±5.8%

ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 หลังการแช่เย็น จนกระทั่งอสุจิหยุดการเคลื่อนที่ พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตรา 1:1, 1:3 และ 1:5 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกัน แต่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตรา 1:7 และ 1:9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

Table 4.4 Motility (%) of chilled slender walking catfish sperm diluted in different dilution ratios

Extender concentration	Hours of storage							
	12	24	36	48	60	72	84	96
1:1	56.7±5.8^{a}	46.7±5.8^{a}	36.7±5.8^{a}	30.0±0.0^{a}	26.7±5.8^{a}	23.3±5.7^{a}	13.3±5.8^{a}	6.7±5.8^{a}
1:3	56.7±5.8^{a}	46.7±11.5^{a}	40.0±0.0^{a}	33.3±5.8^{a}	30.0±0.0^{a}	23.3±5.7^{a}	13.3±5.8^{a}	6.7±5.8^{a}
1:5	53.3±11.5^{a}	46.7±5.8^{a}	36.7±5.8^{a}	30.0±0.0^{a}	26.7±5.8^{a}	20.0±0.0^{ab}	10.0±10.0^{a}	3.3±5.8^{a}
1:7	56.7±5.8^{a}	30.0±0.0^{b}	23.3±5.7^{b}	20.0±0.0^{b}	13.0±5.8^{b}	10.0±0.0^{b}	3.3±5.8^{a}	3.3±5.8^{a}
1:9	53.3±5.8^{a}	30.0±0.0^{b}	23.3±5.7^{b}	20.0±0.0^{b}	13.0±5.8^{b}	10.0±0.0^{b}	3.3±5.8^{a}	0.0±0.0^{a}

Means within the same column followed by different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

อีกทั้งยังพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในทุกอัตราส่วน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ดัง Fig. 4.5 และตั้งแต่ชั่วโมงที่ 84 พบว่าอสุจิมีการเคลื่อนที่น้อยกว่า 10% และพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางในอัตราส่วน 1:9, 1:7 อสุจิหยุดการเคลื่อนที่ชั่วโมงที่ 96 และ 108 ตามลำดับ ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางในอัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 1:9 อสุจิหยุดการเคลื่อนที่ชั่วโมงที่ 120

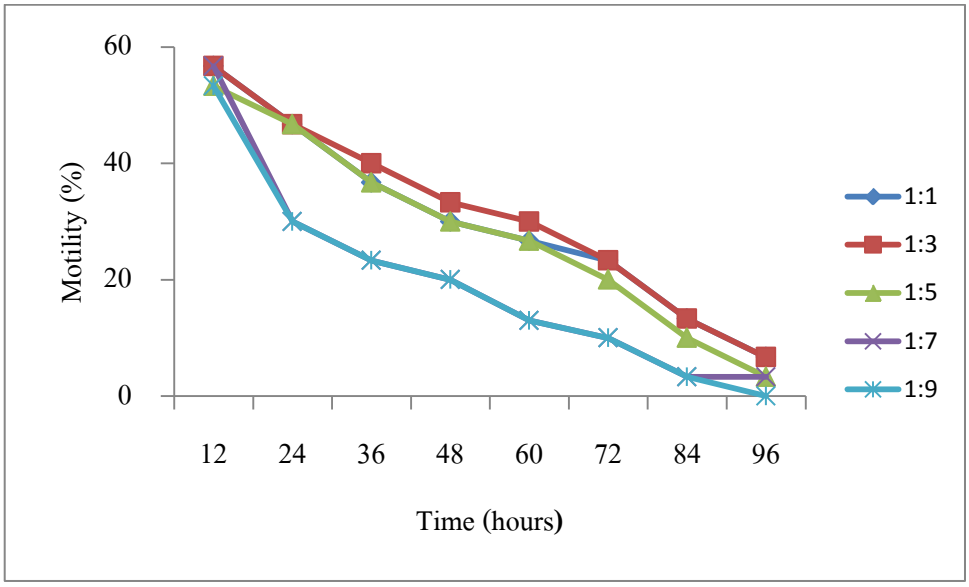

Fig. 4.5 Motility of chilled slender walking catfish sperm diluted in different dilution ratios

4.5 เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยา ในอัตราส่วนต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตราต่างกัน 5 ระดับคือ 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 และ 1:9 และประเมินเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต ทุกๆ 12 ชั่วโมง พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วนต่างกัน ณ เวลาเดียวกัน มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (Table 4.5) แต่เมื่อระยะเวลาเก็บรักษานานขึ้น พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาทุกอัตราส่วน มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตลดลง ดัง Fig. 4.6

Table 4.5 Viability (%) of chilled slender walking catfish sperm diluted in different dilution ratios

Extender concentration	Hours of storage							
	12	24	36	48	60	72	84	96
1:1	93.3±2.9	87.3±5.0	82.0±2.6	77.7±2.1	70.0±2.0	63.3±2.9	52.3±1.5	45.7±2.5
1:3	91.7±1.5	86.7±3.1	82.7±1.2	81.7±8.7	71.0±2.0	65.7±1.5	57.0±2.0	45.3±2.9
1:5	90.0±2.0	87.3±5.0	86.7±2.5	80.7±3.1	68.0±2.6	64.3±2.1	56.0±3.0	48.0±1.0
1:7	90.7±2.1	86.3±3.2	81.3±1.5	78.0±3.0	71.3±1.5	65.7±3.2	55.3±4.9	44.3±4.1
1:9	91.3±2.3	84.0±3.6	79.3±1.5	76.0±3.6	68.7±1.5	62.3±2.5	52.3±2.6	42.3±2.1

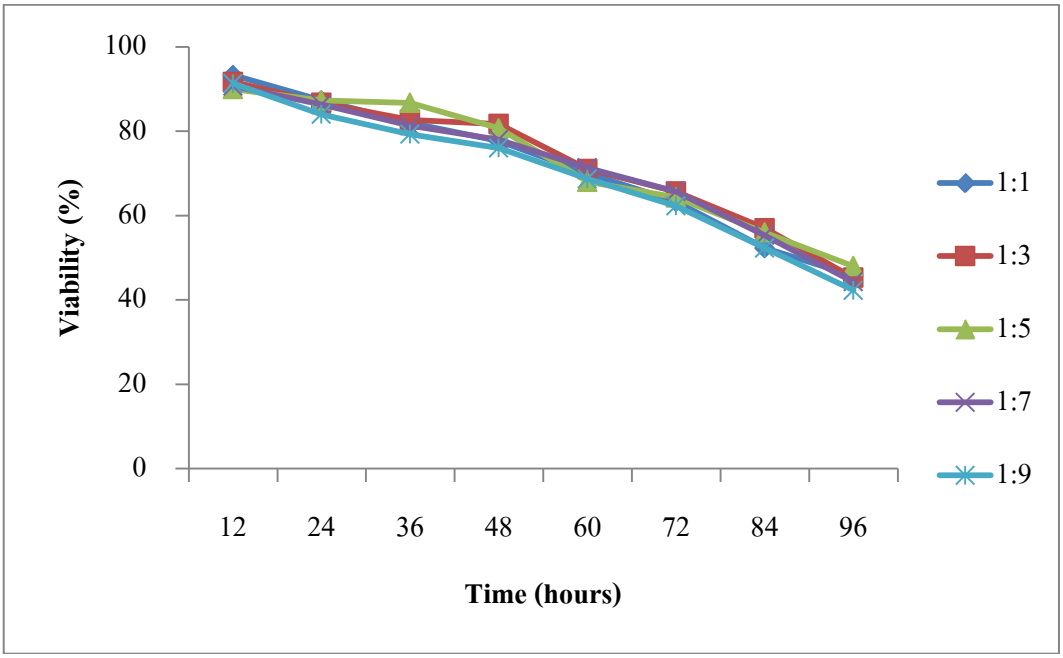

Fig. 4.6 Viability of chilled slender walking catfish sperm diluted in different dilution ratios

4.6 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วนต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่แข็ง

จากการทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็ง โดยนำน้ำเชื้อมาเจือจางในน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตราต่างกัน 5 ระดับคือ 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 และ 1:9 แล้วเติมสารละลาย DMSO จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 8% บรรจุสารละลายในหลอดฟาง (French straw) เก็บในถังไนโตรเจนเหลว (–196°C) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำหลอดน้ำเชื้อมาละลายในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน

1 นาที แล้วทำการประเมินการเคลื่อนที่ของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิมีค่าอยู่ระหว่าง 17.5±5.0 –22.5±5.0% และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตมีค่าอยู่ระหว่าง 41.0±6.2 – 44.5±3.0% และพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตราส่วนต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงใน Table 4.6

Table 4.6 Motility and viability of cryopreserved slender walking catfish sperm diluted in different dilution ratios

Extender concentration	Motility (%)	Viability (%)
1:1	22.5±5.0	42.4±7.5
1:3	17.5±5.0	42.8±10.5
1:5	17.5±5.0	41.0±6.2
1:7	20.0±8.2	42.5±7.1
1:9	17.5±5.0	44.5±3.0

Means within the same column followed by different superscripts are significantly different (P<0.05).

4.7 เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ การฟักไข่ ของปลาดุกลำพันโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง

4.7.1 เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ

จากการผสมเทียมปลาดุกลำพันโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง พบว่าไข่ที่ผสมโดยใช้น้ำเชื้อทั้ง 3 แบบมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิอยู่ระหว่าง 81.8±5.1– 97.5±0.4% น้ำเชื้อแช่แข็งและน้ำเชื้อสดมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ส่วนน้ำเชื้อแช่เย็นมี เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิน้อยกว่า น้ำเชื้อแช่แข็งและน้ำเชื้อสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงใน Table 4.7

4.7.2 เปอร์เซ็นต์การฟัก

เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ที่ผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็งมีค่าอยู่ระหว่าง 47.1 ± 14.2 – 75.5±4.1% การผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อสดเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่สูงกว่าน้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนการใช้น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงใน Table 4.7

Table 4.7 Percent fertilization and hatching of slender walking catfish eggs fertilized with fresh, chilled or cryopreserved sperm

Sperm	Percent fertilization	Percent hatching
Fresh sperm	97.5±0.4[a]	75.5±4.1[a]
Refrigerated sperm	81.8±5.1[b]	52.4±11.2[b]
Cryopreserved sperm	91.5±4.1[a]	47.1±14.2[b]

Means within the same column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)