บทที่ 5
อภิปรายผล สรุป และข้อเสนอแนะ

5.1 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของอสุจิที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น

จากผลการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกลำพันโดยวิธีการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4–6 ^{o}C พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาชนิดอื่นๆ เช่น ปลาดุกอุย, *Clarias macrocephalus* (Vuthiphandchai *et al.*, 2009) Striped bass, *Morone saxatilis* (Jenkins *et al.,* 2001) ปลาดุกอัฟริกัน, *Clarias gariepinus* (Adeyemo *et al.*, 2007) และจากผลการทดลองพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ (extender) ทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิต่ำแต่มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตสูงแสดงว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ ที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีค่าออสโมลาลิตี (osmolality) ใกล้เคียงกับน้ำเชื้อจึงทำให้อสุจิไม่มีการเคลื่อนที่ แต่อสุจิยังมีชีวิต (Omitogun *et al.*, 2012) ซึ่งเป็นสภาพเดียวกับที่อสุจิที่อยู่ในเซมินอล พลาสมา (seminal plasma) ในตัวปลา อสุจิจะไม่เคลื่อนที่ ในปลาน้ำจืดเมื่ออสุจิถูกปล่อยออกมาในน้ำ ค่าออสโมลาลิตีก็จะลดลง ทำให้อสุจิมีการเคลื่อนที่ (Maria *et al.*, 2006a)

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของอสุจิก่อนการเจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 75 % และ เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตมีค่าเท่ากับ 96.8 % ผลการทดลองหลังจากเจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ และเก็บรักษาในตู้เย็นพบว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อต่างกันและ เวลาในการเก็บรักษาต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของอสุจิต่างกัน เนื่องมาจากการเคลื่อนที่ของอสุจิถูกกระตุ้นโดยสารอนินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของน้ำยา ค่าความเป็นกรด–ด่าง (pH) หรือค่าออสโมลาลิตีของน้ำ (Stoss, 1993) ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ แต่ละสูตรมีองค์ประกอบของอิออน เช่นความเข้มข้นของโซเดียม (Na^{+}) โพแทสเซียม (K^{+}) และ แคลเซียม (Ca^{2+}) ที่แตกต่างกัน จึงส่งผลทำให้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ แต่ละสูตรมีค่าความเป็นกรด–ด่าง (pH) และ ค่าออสโมลาลิตีที่ต่างกัน ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Alavi and Cosson (2006) เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Vuthiphandchai *et al.* (2009) ที่ทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกอุยโดยเจือจางน้ำเชื้อในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ สูตรต่างๆ และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C พบว่าน้ำเชื้อปลาดุกอุยที่เจือจางในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสูตรต่างๆ สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อได้เป็นระยะเวลาที่ต่างกัน นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mengumphan *et al.* (2010) ที่พบว่าองค์ประกอบของสารละลาย และค่าออสโมลาลิตีมีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาบึก (*Pangasinodon gigas*) แบบแช่เย็น

จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลาย Modified TSU 1 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ ในชั่วโมงที่ 60 สูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรอื่นๆ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 20% ในขณะที่น้ำยาสูตรอื่นๆ มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิน้อยกว่า 10% และพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลาย Modified TSU 1 สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นานที่สุด โดยในชั่วโมงที่ 108 ยังมีอสุจิที่เคลื่อนที่ 4.3±1.2% และมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต 70.67±8.5 % ในขณะที่น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลาย Modified TSU 2 อสุจิหยุดการเคลื่อนที่ ในชั่วโมงที่ 84 และน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว Ca–F HBSS และไตรโซเดียม ซิเตรท อสุจิหยุดการเคลื่อนที่ ในชั่วโมงที่ 118 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก Modified TSU 1 ประกอบด้วยสารเคมีที่เมื่อละลายน้ำเชื้อแล้วให้อิออนชนิดที่เหมาะสม ช่วยรักษาระดับออสโมลาลิตี และมีพลังงานมากพอที่จะรักษาอสุจิให้มีชีวิต Modified TSU 1 ประกอบด้วย Ca–F HBSS ซึ่งมีอิออนชนิดต่างๆ หลายชนิด และน้ำมะพร้าว ซึ่งประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ จำนวนมาก เช่น กลูโครส ซูโครส ฟรุตโตส และสารแอนติออกซิแดนท์ เช่น กรดแอสคอบิก นอกจากนี้น้ำมะพร้าวยังประกอบไปด้วยโพแทสเซียมที่สูงถึง 257.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Yong *et al*., 2009) จึงมีผลทำให้น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 สามารถเก็บรักษาแบบแช่เย็นได้นานที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของอสุจิสูงที่สุดหลังจากแช่เย็นเป็นเวลา 60 ชั่วโมง

ในขณะเดียวกันผลการทดลองพบว่าน้ำเชื้อปลาดุกลำพันที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าว เพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงอย่างรวดเร็ว เหลือเพียง 26.7% ในชั่วโมงที่ 12 หลังจากการแช่เย็น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก น้ำมะพร้าว มีปริมาณโพแทสเซียมที่สูงถึง 257.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Yong *et al*., 2009) อาจเป็นไปได้ว่าปริมาณโพแทสเซียมที่สูงมีผลต่อความสามารถของหางอสุจิสำหรับการเคลื่อนที่ของแฟลกเจลลา (flagella) (Alavi *et al*., 2009) หรืออาจเนื่องมาจากน้ำมะพร้าวมีสภาพเป็นกรด (pH 5.5) ซึ่งมีผลต่อผนังเซลล์ของอสุจิ (Bohlooli *et al*., 2012) และผลการทดลองยังพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท (trisodium citrate) เพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงที่สุด (70.0%) ในชั่วโมงที่ 12 หลังการแช่เย็น หลังจากนั้น เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงอย่างรวดเร็วเหลือเพียง 20% ในชั่วโมงที่ 24 สาเหตุอาจเนื่องมาจากสารอาหารที่เป็นส่วนประกอบของไตรโซเดียม ซิเตรท ถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็ว คล้ายคลึงกับผลการทดลองของ Adeyemo *et al*. (2007) ที่พบว่าไตรโซเดียม ซิเตรท ให้ผลดีในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกอัฟริกัน ในระยะเวลาสั้นๆ ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิใกล้เคียงกับ น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS และ Modified TSU 1 ในช่วง 36 ชั่วโมงแรกของการแช่เย็น หลังจากนั้นเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงอย่างรวดเร็วเหลือเพียง 3.3% ในชั่วโมงที่ 48 หลังการแช่เย็น

นอกจากนี้น้ำเชื้อที่เจือด้วย Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตต่ำที่สุดตลอดระยะเวลาทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารอาหารในน้ำยา Modified TSU 2 มีปริมาณลดลงในชั่วโมง 36 ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ 50%, 40% และ 23.3 ในชั่วโมงที่ 12 , 24 และ 36 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่ต่างกับน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 และ Modified TSU 2 แต่มี

เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงเหลือ 20% ในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งต่ำกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก Ca–F HBSS มีปริมาณสารอาหารที่น้อยกว่า Modified TSU 1 ที่มีน้ำมะพร้าวเป็นส่วนประกอบและในน้ำมะพร้าวมีน้ำตาลกลูโครสในปริมาณที่สูง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Sahin *et al.* (2013) ที่พบว่าสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโครส ให้ผลดีที่สุดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) โดยวิธีแช่เย็น

5.2 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของอสุจิที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่แข็ง

จากการทดลองเจือจางน้ำเชื้อปลาดุกลำพันด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสูตรต่างๆ 5 สูตร ในอัตรา 1:9 และแช่แข็งในไนโตรเจนเหลวเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า Ca–F HBSS เป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกลำพันแบบแช่แข็ง โดยมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตหลังการละลายสูงที่สุด (63.0±5.7%) และมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ สูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท และ Modified TSU 2 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก Ca–F HBSS ประกอบด้วยสารเคมีที่เหมาะสมในการป้องกันความเสียหายของเซลล์ในขั้นตอนการลดอุณหภูมิและขั้นตอนการละลายในกระบวนการแช่แข็ง

ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 1 และน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำมะพร้าวแม้ว่าจะมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS แต่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิไม่ต่างกับน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS ส่วนน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไตรโซเดียม ซิเตรท มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ (5.0±5.8%) และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต (22.5±3.5%) ต่ำที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไตรโซเดียม ซิเตรท มีส่วนประกอบของเกลือเพียงอย่างเดียว ส่วน Ca–F HBSS, Modified TSU 1 และน้ำมะพร้าว มีน้ำตาลกลูโครส ในองค์ประกอบ ซึ่งน้ำตาลกลูโครสมีโมเลกุลเดี่ยว ง่ายต่อการที่ไมโทคอน-เดรียของอสุจิจะนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Yildiz *et al.*, 2000) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Routray *et al.* (2008) ที่ทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus*) แบบแช่แข็ง พบว่าการเติมกลูโครส ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ สูตรที่ไม่เติมกลูโครส และคล้ายคลึงกับผลการทดลองของ พลชาติ ผิวเณร และคณะ (2547) ที่ทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อปลานิลโดยวิธีแช่แข็ง พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย 0.85% NaCl ให้ผลต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย modified fish ringer’s solution เนื่องจาก 0.85% NaCl มีส่วนประกอบของเกลือเพียงอย่างเดียว ส่วน modified fish ringer’s solution ประกอบไปด้วยเกลือหลายชนิด หรืออาจเนื่องมาจาก ไตรโซเดียม ซิเตรท ไม่มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ช่วยลดผลกระทบจากการลดอุณหภูมิในกระบวนการแช่แข็ง เนื่องจากในระหว่างการลดอุณหภูมิน้ำในสารละลายจะกลายเป็นของแข็งก่อนทำให้สารละลายที่เหลือมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นและทำให้ค่า pH เปลี่ยนแปลง (Mc Andrew *et al.*, 1995)

ส่วน Modified TSU 2 แม้ว่ามีส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคสจากน้ำมะพร้าวแต่อาจมีในปริมาณที่น้อยจึงทำให้น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Modified TSU 2 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ (7.5±5.0%) และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต (28.0±1.4%) ต่ำกว่า Ca–F HBSS, Modified TSU 1 และน้ำมะพร้าว

5.3 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วน ต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น

จากการประเมินเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตราส่วนต่างๆ 5 อัตราคือ 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 และ 1:9 ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น ผลการทดลองพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 1:5 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตไม่แตกต่างกัน แต่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่สูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางในอัตรา 1:7 และ 1:9 และผลการทดลองพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วนต่างกันมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตไม่แตกต่างกัน แสดงว่าอัตราของน้ำเชื้อต่อน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ แต่ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อปลาดุกลำพันที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่เย็น ผลการศึกษาครั้งนี้คล้ายคลึงกับผลการศึกษาของ DeGraaf and Berlinsky (2004) ที่พบว่าน้ำเชื้อปลา Atlantic cod และปลา haddock ที่เจือจางในอัตรา 1:3 หลังจากแช่เย็นเป็นเวลา 10 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิสูงที่สุดซึ่งสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางในอัตรา 1:1, 1:2, 1:5 และ 1:10 และหลังจากแช่เย็นเป็นเวลา 20 วันน้ำเชื้อที่เจือจางในอัตรา 1:1, 1:5 และ 1:10 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางในอัตรา 1:2 และ 1:3 และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Vuthiphandchai *et al.* (2009) ที่พบว่าน้ำเชื้อปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) ที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS ที่อัตรา 1:1, 1:2 หรือ 1:4 สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า น้ำเชื้อที่เจือจางในอัตรา 1:9

5.4 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วนต่างๆ ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่แข็ง

จากผลการศึกษาเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกลำพันโดยวิธีแช่แข็ง โดยนำน้ำเชื้อมาเจือจางในน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตราต่างกัน 5 ระดับคือ 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 และ 1:9 พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาในอัตราส่วนต่างกัน มี เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตไม่แตกต่างกัน ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาของ DeGraaf and Berlinsky (2004) ที่พบว่าน้ำเชื้อแช่แข็งของปลา Atlantic cod และปลา haddock ที่เจือจางในอัตรา 1:3 มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่สูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางในอัตรา 1:1 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปลาชนิดต่างกันจึงทำให้ผลการทดลองต่างกัน แต่ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Omitogun *et al.* (2012) ที่ทดลองแช่แข็งน้ำเชื้อปลาดุกอัฟริกันซึ่งเป็นปลาในสกุล (genus) เดียวกับปลาดุกลำพัน โดยเจือจางน้ำเชื้อด้วยสารปกป้องเซลล์ที่อัตรา 1:1 และ 1:40 ผลการทดลองพบว่าอัตราเจือจางต่างกันไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ

Ciereszko *et al.* (2013) ที่พบว่าอัตราส่วนของน้ำเชื้อต่อน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ ที่อัตรา 1:1, 1:3 และ 3:1 ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ ปลา whitefish ที่เก็บรักษาโดยวิธีแช่แข็ง

5.5 เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ การฟักไข่ ของปลาดุกลำพันโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง

5.5.1 เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิของปลาดุกลำพันโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง

จากการผสมเทียมปลาดุกลำพันโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง พบว่าไข่ที่ผสมโดยใช้น้ำเชื้อทั้ง 3 แบบมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิที่สูงคือมีค่าเท่ากับ 97.5±0.4, 81.8±5.1 และ 91.5±4.1 % ตามลำดับ แสดงว่าไข่ที่ใช้ในการผสมเทียมมีคุณภาพดีและปริมาณของน้ำเชื้อสดเพียงพอสำหรับการผสมกับไข่ ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Vuthiphandchai *et al.* (2009) ที่พบว่าการผสมเทียมปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) โดยใช้น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Calcium-free Hanks' balanced salt solution (Ca–F HBSS) ในอัตรา 1:4 และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C เป็นเวลา 2 วันมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ 80.1±3.6% และเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิของไข่ที่ผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองในปลาดุกอัฟริกัน (*Clarias gariepinus*) (Horvath and Urbanyi, 2000) และปลากดเหลือง (*Pelteobagrus fulvidraco*) (Pan *et al.*, 2008) ที่พบว่าไข่ที่ผสมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิเท่ากับ 86.8 ± 3.1% และ 90.47±3.67% ตามลำดับ

ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าไข่ที่ผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งและน้ำเชื้อสดมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิที่สูงและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงว่าน้ำเชื้อแช่แข็งมีปริมาณอสุจิเพียงพอสำหรับการปฏิสนธิ แต่ไข่ที่ผสมโดยน้ำเชื้อแช่เย็นมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิต่ำกว่าน้ำเชื้อแช่แข็งและน้ำเชื้อสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สาเหตุอาจเนื่องมาจากน้ำเชื้อแช่เย็นมีการตายของอสุจิมากกว่าน้ำเชื้อแช่แข็ง ทำให้จำนวนอสุจิของน้ำเชื้อแช่เย็นมีน้อยกว่าน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็งและมีปริมาณไม่เพียงพอสำหรับการปฏิสนธิส่งผลทำให้ไข่ที่ผสมโดยน้ำเชื้อแช่เย็นมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิต่ำกว่าน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็ง ต่างจากผลการทดลองของ Vuthiphandchai *et al.* (2009) ที่พบว่าเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิของปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) ที่ใช้น้ำเชื้อที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นเป็นเวลา 2 วัน มีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ ไม่ต่างกับการใช้น้ำเชื้อสดและต่างจากผลการทดลองของ Omitogun *et al.* (2010); Omitogun *et al.* (2012) ที่พบว่าปลาดุกอัฟริกันที่ผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิต่ำกว่าการใช้น้ำเชื้อสด เนื่องจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อทั้งแบบแช่เย็นและแบบแช่แข็งมีหลายปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการคงสภาพการมีชีวิตของอสุจิ เช่นสูตรน้ำยาที่ใช้เจือจางน้ำเชื้อ อัตราส่วนของน้ำเชื้อต่อน้ำยา และส่วนประกอบของน้ำเชื้อ ฯลฯ ปัจจัยดังกล่าวอาจเหมาะสมกับปลาชนิดหนึ่งแต่อาจไม่เหมาะสมกับปลาอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลการทดลองครั้งนี้ต่างจากผลการทดลองในปลาดุกอุยและปลาดุกอัฟริกัน อย่างไรก็ตามแม้ว่าผลการทดลองครั้งนี้ไข่ที่ผสมโดยใช้น้ำเชื้อแช่เย็นมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิต่ำกว่าน้ำเชื้อแช่แข็งและน้ำเชื้อสดแต่มีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิที่สูงและใกล้เคียงกับผลการทดลองในปลาดุกอุย (80.1±3.6) (Vuthiphandchai *et al.*, 2009)

5.5.2 อัตราการฟักของปลาดุกลำพันโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง

เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ที่ผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็งมีค่าเท่ากับ 75.5±4.1, 52.4±11.2 และ47.1 ± 14.2 % ตามลำดับ ผลของการใช้น้ำเชื้อสดมีค่าต่ำกว่าปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*) (90%) (Lal *et al.*, 2009) แต่ใกล้เคียงกับปลาดุกอุย (72.8±3.1) (Vuthiphandchai *et al.*, 2009) ส่วนน้ำเชื้อแช่เย็นมีเปอร์เซ็นต์การฟักต่ำกว่าปลาดุกอุยที่ใช้น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Ca–F HBSS ในอัตรา 1:4 และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C เป็นเวลา 2 วัน (71.6±3.4%) (Vuthiphandchai *et al.*, 2009) และการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การฟักต่ำกว่าปลาดุกด้านที่ผสมโดยใช้น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย HBSS และเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ –196 ^{o}C เป็นเวลา 2 วัน มีเปอร์เซ็นต์การฟักเท่ากับ 62.1 % (Lal *et al.*, 2009) สาเหตุที่เปอร์เซ็นต์การฟักต่างกันอาจเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมในการฟัก เช่นอุณหภูมิของน้ำ ระบบการฟักของแต่ละการทดลองต่างกันจึงทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่าไข่ที่ผสมโดยน้ำเชื้อแช่เย็นและน้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การฟักไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่มีเปอร์เซ็นต์การฟักต่ำกว่าน้ำเชื้อสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ต่างจากผลการทดลองของ Oetome *et al.* (1996) ที่พบว่าเปอร์เซ็นต์ฟักของปลาดุกอัฟริกันที่ใช้น้ำเชื้อแช่แข็งไม่แตกต่างกับน้ำเชื้อสด โดยมีเปอร์เซ็นต์การฟัก 78.9% และ 82.25% ตามลำดับ แต่ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับผลการทดลองในปลาดุกด้าน (Lal *et al.*, 2009) ปลาดุกอัฟริกัน (Omitogun *et al.*, 2012) และปลา Atlantic Cod, *Gadus morhua* L. (Ottesen *et al.*, 2012) ที่พบว่าการผสมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การฟักต่ำกว่าการใช้น้ำเชื้อสด เนื่องมาจากน้ำเชื้อแช่แข็งต้องผ่านขั้นตอนต่างๆ ในการเก็บรักษา เช่นขั้นตอนการลดความเย็น ขั้นตอนการละลาย ซึ่งขั้นตอนต่างๆ เหล่านี้มีผลต่อโครงสร้างและหน้าที่ของอสุจิ (Omitogun *et al.*, 2012) อสุจิส่วนใหญ่เปลี่ยนแปลงรูปร่างและไม่มีไมโตคอนเดรีย (Ottesen *et al.*, 2012) จึงทำให้ไข่ได้รับการปฏิสนธิกับอสุจิดังกล่าวมีการตายระหว่างการพัฒนาของตัวอ่อน มีผลทำให้มีเปอร์เซ็นต์การฟักต่ำกว่าน้ำเชื้อสดซึ่งไม่ผ่านกระบวนการเก็บรักษา ไม่มีการเปลี่ยนรูปร่าง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิที่สูงและไม่ต่างกับน้ำเชื้อสดแต่มีเปอร์เซ็นต์การฟักต่ำกว่าน้ำเชื้อสด สาเหตุอาจเนื่องมาจากน้ำเชื้อแช่แข็งมีอสุจิบางตัวที่ยังมีชีวิตแต่โครงสร้างผิดปกติ สามารถปฏิสนธิได้ จึงทำให้ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิกับอสุจิที่มีโครงสร้างผิดปกติไม่สามารถฟักออกเป็นตัวได้เนื่องจากมีการตายระหว่างการพัฒนาของตัวอ่อนจึงมีผลทำให้มีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิสูงแต่เปอร์เซ็นต์การฟักต่ำ

สรุปผลการศึกษา

1. จากการทดลองเพื่อหาสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกลำพันโดยวิธีการแช่เย็นพบว่า Modified TSU 1 เป็นน้ำยา ที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้เจือจางน้ำเชื้อปลาดุกลำพันที่เก็บรักษา โดยวิธีแช่เย็น

2. จากการทดลองเพื่อหาสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกลำพันโดยวิธีการแช่แข็ง พบว่า Ca–F HBSS เป็นน้ำยาที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้เจือจางน้ำเชื้อปลาดุกลำพันที่เก็บรักษา โดยวิธีแช่แข็ง

3. จากการทดลองเพื่อหา อัตราส่วนน้ำเชื้อต่อน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกลำพันโดยวิธีการแช่เย็น พบว่าการเจือจางน้ำเชื้อด้วยน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตรา 1:1, 1:3 และ 1:5 เหมาะสมกว่าการเจือจางในอัตรา 1:7 และ 1:9

4. จากการทดลองเพื่อหา อัตราส่วนน้ำเชื้อต่อน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกลำพันโดยวิธีการแช่แข็ง พบว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดุกลำพันโดยวิธีแช่แข็ง สามารถเจือจาง น้ำเชื้อด้วยน้ำยา Modified TSU 1 ในอัตรา 1:1 – 1:9

5. จากการทดลองเปรียบเทียบ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟักไข่ปลาดุกลำพันจากการใช้น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง พบว่าการทดลองครั้งนี้ประสบความสำเร็จในการผสมเทียมปลาดุกลำพันโดยใช้น้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยน้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิไม่ต่างกับน้ำเชื้อสด แต่มีเปอร์เซ็นต์การฟักต่ำกว่าการใช้น้ำเชื้อสด ส่วนน้ำเชื้อแช่เย็นมีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิและเปอร์เซ็นต์การฟักต่ำกว่าการใช้น้ำเชื้อสด

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองพบว่าอัตราการปฏิสนธิและอัตราฟักของน้ำเชื้อแช่เย็น และอัตราฟักของน้ำเชื้อแช่แข็ง มีค่าต่ำกว่าน้ำเชื้อสด ผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะดังต่อไปนี้

1. ควรมีการศึกษาปริมาณน้ำเชื้อแช่เย็น และน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่เหมาะสมกับปริมาณไข่เพื่อเพิ่มอัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟัก ของน้ำเชื้อแช่เย็นและน้ำเชื้อแช่แข็ง

2. ควรมีการศึกษาโครงสร้างหรือรูปร่างของอสุจิแช่เย็นและแช่แข็ง