น้ำเชื้อปลาและการเก็บรักษา

Milt and Preservation

ณิศา มาชู[1]

Nisa Machoo

การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา เป็นการเก็บรักษาอสุจิหรือเชื้อตัวผู้ของปลา ให้มีชีวิตอยู่ได้นาน ๆ เมื่อรีดออกมาจากตัวปลาแล้ว ซึ่งต้องอาศัยเทคนิควิธีการที่เหมาะสมกับน้ำเชื้อของปลาชนิดนั้น ๆ เช่น น้ำยาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา อุณหภูมิในการเก็บรักษา สารป้องกันการแข็งตัวของเซลล์ก่อนการแช่เข็ง การลดอุณหภูมิก่อนการแช่แข็ง หรือการเพิ่มอุณหภูมิหลังการแช่แข็งเหล่านี้เป็นต้น

น้ำเชื้อและอสุจิปลา

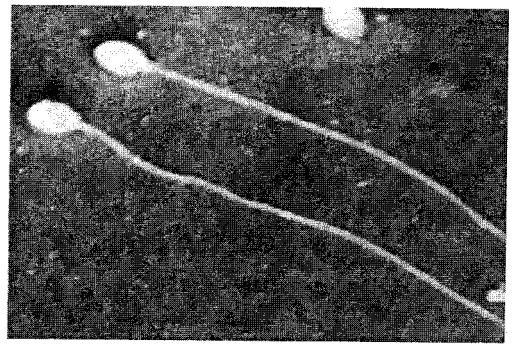
น้ำเชื้อปลาคือของเหลวที่รีดออกมาจากอวัยวะสืบพันธุ์ของปลาเพศผู้หรือที่อยู่ในพูอัณฑะ มีลักษณะสีขาวคล้ายน้ำนม แต่ข้นเหนียว และมีกลิ่นคาว ซึ่งน้ำเชื้อปลาถ้านำมาปั่นแยก (centrifuge) ก็จะแยกออกได้ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นเซลล์อสุจิ (spermatozoa) และเป็นของเหลว (seminal fluid) ปริมาณของน้ำเชื้อ และความหนาแน่นของตัวอสุจิจะแตกต่างกันตามชนิด ขนาด อายุ ความสมบูรณ์เพศ ฤดูกาล และสิ่งแวดล้อมของปลา

อสุจิของปลาต่างจากของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่น ๆ ตรงที่ไม่มีส่วนของ acrosome ทั้งนี้เพราะไข่ปลามี micropyle ซึ่งเป็นทางผ่านของอสุจิอยู่แล้ว ตัวอสุจิของปลาแต่ละชนิดจะมีรูปร่างลักษณะต่าง ๆ กัน แต่ทุกชนิดจะมีส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วน คือ 1) ส่วนหัว (head) เป็นที่อยู่ของ nucleus จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าส่วนหัวของอสุจิปลาตะเพียนขาว ปลาดุก และปลาทอง มีลักษณะกลม ส่วนอสุจิของปลาไนและปลาสวายมีส่วนหัวรูปไข่ 2) ส่วนมิดพีซ (mid-piece) หรือส่วนกลางเป็นส่วนที่อยู่ถัดจากส่วนหัว ประกอบด้วย microtubule ซึ่งเป็นแกนกลางของส่วนหัวล้อมรอบด้วย cytoplasm ภายในมี mitochondria และ centriole 3) ส่วนหาง (tail) ประกอบด้วย microtubule ที่เรียงเป็นวงรอบแกนกลาง ซึ่งทำให้อสุจิเคลื่อนไหวได้ (อุทัย รัตน์ ณ นคร , 2538)

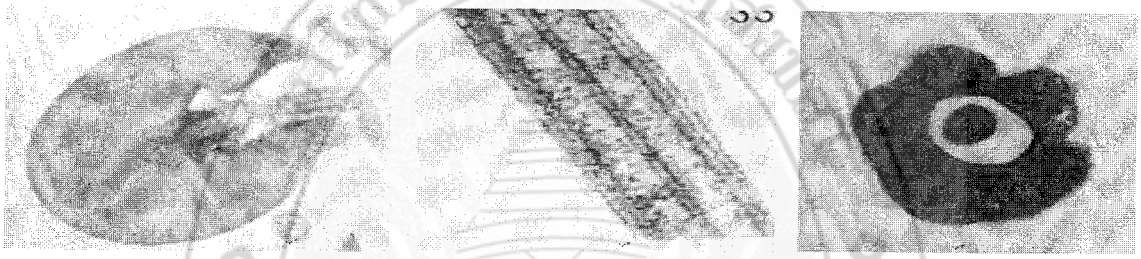
---

[1]โปรแกรมวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

Aquaculture Program , Faculty of Agricultural Technology , Songkhla Rajabhat University , Muang , Songkhla 90000 Thailand.



ภาพที่ 1 สุจิปลาสวาย จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM)



(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 2 ส่วนหัว (ก) ส่วนกลาง (ข) และส่วนหาง (ค) ของอสุจิปลาสวาย จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (TEM)

ที่มา : อนงคณ์ หัมพานนท์ (2539)

ของเหลวในน้ำเชื้อปลา

ของเหลวในน้ำเชื้อปลา (seminal fluid) ประกอบด้วย ion ต่าง ๆ ได้แก่ Na^+ K^+ Ca^{2+} Mg^{2+} และ Cl^- เป็นต้น ซึ่งส่วนประกอบต่าง ๆ เหล่านี้จะมีชนิดและปริมาณแตกต่างกันไปตามชนิดหรือกลุ่มของปลา ซึ่งเราสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา โดยการเตรียมน้ำยาที่เหมาะสมกับน้ำเชื้อปลาแต่ละกลุ่ม ซึ่งต้องใช้สารเคมีที่เมื่อละลายน้ำเชื้อแล้วให้อิออนชนิดที่เหมาะสม และน้ำยานั้นควรมี osmolality ใกล้เคียงกับของเหลวในน้ำเชื้อปลา ทั้งนี้เพื่อป้องกันการกระตุ้นการเคลื่อนไหวหรือการใช้พลังงานของตัวอสุจิ ตลอดจนการรักษาให้ตัวอสุจิคงรูป เช่น จากการศึกษาน้ำเชื้อปลา turbot ตลอดฤดูการผสมพันธุ์ โดยนำปลา turbot จำนวน 30 ตัว มาทำการรีดน้ำเชื้อ แล้วนำไป centrifuge ที่ 10,000 g นาน 5 นาที แล้วนำ seminal fluid มาวัดค่า osmotic pressure และวัดปริมาณ ion ต่าง ๆ พบว่าใน seminal fluid ของปลา turbot มีส่วนประกอบดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของ seminal fluid ของปลา turbot (*Scophthalmus maximus*) (mean±95% confidence intervals)

Osmotic pressure (mosm l^{-1})	306±6
pH	7.31±0.16
Total proteins (mg ml^{-1})	8.8±1.6
Na^+ (mmol l^{-1})	133.0±3.7
K^+ (mmol l^{-1})	3.8±0.7
Cl^- (mmol l^{-1})	129±5
Sperm concentration (x 10^9 spz ml^{-1})	4.6±0.8
Sperm motility (min S^{-1})	3.4±0.58

ที่มา : Suquet และคณะ (1993)

ประโยชน์ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา

การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเพื่อให้อสุจิของปลามีชีวิตอยู่ได้นานกว่าปกติ มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการเพาะขยายพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ ดังเช่น 1) ช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายและระยะเวลาในการเลี้ยงพ่อพันธุ์ปลา เพราะสามารถลดจำนวนพ่อพันธุ์ปลา และเนื้อที่บ่อที่ใช้เลี้ยงได้รวมทั้งขั้นตอนในการเพาะพันธุ์ก็สามารถทำได้สะดวกรวดเร็ว อีกทั้งยังช่วยป้องกันการสูญเสียพ่อพันธุ์ปลาที่มีความสำคัญทางพันธุกรรมได้อีกด้วย 2) ประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุกรรมของปลาในกรณีที่ต้องการให้มีการผสมพันธุ์ปลาข้ามถิ่นที่อยู่อาศัยเพราะการขนย้ายน้ำเชื้อย่อมสะดวกกว่าการขนย้ายพ่อพันธุ์ปลา รวมทั้งการผสมข้ามชนิดและการผสมพันธุ์ข้ามสกุลเพื่อให้ได้ปลาสายพันธุ์ใหม่ที่มีประโยชน์เชิงเศรษฐกิจ อย่างการนำพ่อพันธุ์ปลาดุกเทศ (*Clarias gariepinus* Burchell) มาผสมกับแม่พันธุ์ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus* Gunther) ได้ปลาลูกผสมซึ่งมีชื่อเรียกว่าปลาบิ๊กอุย (ธนะสิทธิ์ เหล่าประเสริฐ, 2533) 3) ประโยชน์ต่อการเพาะพันธุ์ปลาบางชนิดที่มีการสืบพันธุ์แบบกระเทย (hermaphroditism) เช่น ปลากะรังหรือปลาเก๋า จะเป็นแบบที่มีการสร้างเซลสืบพันธุ์ทั้งเชื้อตัวผู้ และไข่ภายในปลาตัวเดียวกัน ซึ่งจะมีทั้งแบบที่สร้างเชื้อสืบพันธุ์ทั้ง 2 ชนิดพร้อมกัน และแบบที่มีการเปลี่ยนเพศ คือ ช่วงแรกของชีวิตจะเป็นเพศหนึ่งแต่เมื่ออายุมากขึ้นหรือขนาดโตขึ้นจะกลายเป็นอีกเพศหนึ่ง (http://home.kku.ac.th/pracha/Breeding.htm) 4) ประโยชน์ต่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมปลาบางชนิดที่หายากหรือใกล้จะสูญพันธุ์ ซึ่งบางครั้งอาจจับปลาเพศผู้และเพศเมียได้ไม่พร้อมกัน จึงเป็นอุปสรรคต่อการเพาะขยายพันธุ์ เช่น ปลาบึก จึงมีการศึกษาวิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาบึกแช่แข็งเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุ์สัตว์น้ำ (http://www.trangfishery.com/seet/5_year_beug.pdf)

วิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา

การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาสามารถเก็บได้ 2 วิธี เช่นเดียวกับการเก็บรักษาน้ำเชื้อในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมคือ

1. การเก็บรักษาแบบระยะสั้น เป็นการเก็บรักษาในถังน้ำแข็งหรือในตู้เย็นที่อุณหภูมิสูงกว่า 0 องศาเซลเซียสเล็กน้อย ซึ่งการเก็บรักษาน้ำเชื้อด้วยวิธีนี้สามารถเก็บได้ทั้งสภาพเข้มข้นหรือเจือจางด้วยสารละลายที่มีความเหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาชนิดต่าง ๆ

2. การเก็บรักษาแบบระยะยาว เป็นการเก็บแช่แข็งในถังไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส ซึ่งการเก็บรักษาน้ำเชื้อด้วยวิธีนี้ถ้ามีการเลือกใช้สูตรน้ำยาที่ใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อ ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์ (สารที่ช่วยป้องกันความเสียหายของเซลล์ในกระบวนการแช่แข็ง) ระยะ equilibration time (ช่วงเวลาหลังจากผสมน้ำเชื้อกับสารไครโอโพรเทคแทนท์ก่อนทำการแช่แข็ง) และอัตราการลดอุณหภูมิก่อนการแช่แข็ง รวมทั้งระดับไนโตรเจนในถังที่เก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็ง ถ้ามีการปฏิบัติและเลือกใช้อย่างถูกต้องเหมาะสมกับน้ำเชื้อปลาแต่ละชนิด สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาได้นานหลายสิบปี เมื่อจะใช้ก็นำออกมาละลายด้วยวิธีการและอุณหภูมิที่เหมาะสมทำให้ได้ผลการเพาะฟักผสมเทียมที่มีประสิทธิภาพสูงไม่ต่างจากน้ำเชื้อสด

ปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา

การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็งให้มีคุณภาพดี มีจำนวนอสุจิที่มีชีวิตอยู่ในปริมาณมากขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ดังตัวอย่างเช่น

1. น้ำเชื้อปลาที่จะนำมาเก็บรักษา ควรเป็นน้ำเชื้อสดที่รีดจากปลาเพศผู้ใหม่ ๆ มีลักษณะสีขาวนวล ไม่มีการปนเปื้อนด้วยน้ำเลือด น้ำปัสสาวะ หรือของเสียอื่น ๆ ดังนั้นในการรีดน้ำเชื้อจากตัวปลาควรเช็ดบริเวณท้องปลาให้แห้ง เพื่อป้องกันไม่ให้น้ำที่เกาะตามตัวปลาหยดลงมาปนกับน้ำเชื้อที่รีดได้ เพราะจะทำให้น้ำเชื้อเสื่อมคุณภาพก่อนที่จะเก็บรักษา

2. สารละลายหรือน้ำยาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ควรมีองค์ประกอบเหมาะสมกับน้ำเชื้อปลาแต่ละชนิด เช่น อิออน ออสโมลาลิตี้ ควรมีค่าใกล้เคียงกับของเหลวในน้ำเชื้อปลาหรือในน้ำเลือด เพื่อป้องกันการกระตุ้นการเคลื่อนไหว หรือการใช้พลังงานของตัวอสุจิตลอดจนการรักษาให้อสุจิคงรูป ดังนั้นน้ำยาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาต้องไม่กระตุ้นการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ เพื่อเป็นการรักษาให้ตัวอสุจิมีชีวิตและมีความสามารถในการผสมกับไข่ได้ใกล้เคียงกับน้ำเชื้อสด เพราะจากการนำน้ำเชื้อสดออกมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตัวอสุจิปลายังไม่มีการเคลื่อนไหว แต่เมื่อน้ำเชื้อปลาผสมกับน้ำพบว่าตัวอสุจิถูกกระตุ้นให้มีการเคลื่อนไหวอย่างรุนแรง อันเป็นผลมาจากการเจือจาง (dilution effect) แต่การเคลื่อนไหวดังกล่าวจะสิ้นสุดลงอย่างรวดเร็วภายในเวลาประมาณ 1 นาที และน้ำยาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อควรมีสารเคมีที่ทำหน้าที่ควบคุมความเป็น

กรด-ด่าง เป็นแหล่งพลังงาน และสารเคมีบางตัวที่ทำหน้าที่ต้านหรือทำลายพิษจากของเสียที่ขับถ่ายออกมาจากเซลล์ หรือมีส่วนประกอบที่เป็นยาปฏิชีวนะ เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

3. สารไครโอโพรเทคแทนท์ เป็นสารที่ช่วยป้องกันความเสียหายของเซลในกระบวนการแช่แข็ง เนื่องจากการแช่แข็งเป็นการลดอุณหภูมิลงต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง ดังนั้นของเหลวที่อยู่รอบเซลล์และภายในเซลล์จึงกลายเป็นเกล็ดน้ำแข็ง และอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมนี้เป็นการลดอุหภูมิที่พอเหมาะที่จะป้องกันการเกิดเกล็ดน้ำแข็งภายในเซลล์ หรือถ้าเกิดขึ้นก็ให้มีน้อยที่สุดแต่ในขณะเดียวกันอัตราการลดอุณหภูมินั้นก็ควรจะเร็วพอที่จะไม่ทำให้เซลล์เป็นอันตราย เนื่องมาจากการสูญเสียน้ำของเซลล์ด้วย (Maurer, 1978) สารไครโอโพเทคแทนท์สามารถจำแนกประเภทออกเป็น 2 ประเภท คือ ประเภทที่ออกฤทธิ์ภายในเซลล์ สารเคมีกลุ่มนี้จำต้องซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์เพื่อทำหน้าที่ป้องกันอันตรายไม่ให้เกิดในขณะแช่แข็งและละลาย ตัวอย่างเช่น glycerol dimethylsulfoxide (DMSO) methanol ethanol เป็นต้น ซึ่งสารเคมีพวกนี้จะออกฤทธิ์ป้องกันอันตรายได้ดี เมื่อใช้ในระดับที่มีความเข้มข้นค่อนข้างสูง (1-4 M) แต่ก็มีข้อเสียอยู่ประการหนึ่งคือจะเป็นพิษต่อเซลล์ ส่วนอีกประเภทคือออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ สารเคมีกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ขณะที่อยู่ภายนอกเซลล์ และใช้ได้ผลดีที่ความเข้มข้นต่ำกว่าพวกแรก (0.01-0.2 M) และเป็นพิษน้อยกว่า ตัวอย่างเช่น น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น sucrose glucose สำหรับ glucose นั้นเป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กจึงแพร่เข้าออกเซลล์ได้ บางคนจึงจัดน้ำตาลกลูโคส เป็นไครโอโพรเทคแทนท์ประเภทออกฤทธิ์ภายในเซลล์ด้วย (กฤษณ์ มงคลปัญญา, 2536)

4. การลดอุณหภูมิก่อนการแช่แข็ง การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง ก่อนนำน้ำเชื้อปลาลงแช่แข็งในถังไนโตรเจนเหลว อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส ต้องมีการปรับลดอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้องไปอุณหภูมิต่ำลงเรื่อย ๆ จนถึงจุดเยือกแข็ง หรือลดลงประมาณ -80 ถึง -100 องศาเซลเซียส โดยลดในระดับไอของไนโตรเจนเหลวก่อน แล้วถึงจะนำเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียสได้ ทั้งนี้เพื่อให้เซลค่อย ๆ ปรับตัว จากผลการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็งโดยส่วนมาก มีแนวโน้มให้เห็นว่าการลดอุณหภูมิอย่างช้า มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของอสุจิภายหลังการแช่แข็งสูงกว่าการลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว ดังเช่นใช้อัตราการลดอุณหภูมิเป็น -5, -10, -20 หรือ -30 องศาเซลเซียสต่อนาที ทั้งนี้และทั้งนั้นก็ขึ้นอยู่กับภาชนะที่บรรจุน้ำเชื้อปลาด้วย

5. การเพิ่มอุณหภูมิหลังการแช่แข็ง ภายหลังการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง เมื่อจะนำน้ำเชื้อปลาที่แช่แข็งมาใช้ก็ต้องนำมาละลายให้เป็นของเหลวก่อนที่จะนำมาใช้ผสมกับไข่สด ซึ่งการละลายก็ทำโดยนำน้ำเชื้อซึ่งบรรจุในหลอดหรือภาชนะที่เก็บรักษา มาละลายในน้ำที่มีอุณหภูมิสูง ประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส ทั้งนี้และทั้งนั้นการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งต้องคำนึงถึงขนาดรูปทรงของหลอดที่บรรจุน้ำเชื้อ อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ละลายให้สัมพันธ์กัน เพื่อให้น้ำเชื้อที่เก็บรักษามีจำนวนอสุจิที่มีชีวิตมากที่สุด

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

ก่อนทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อ และหลังการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา ต้องมีการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ ซึ่งทำได้ดังนี้

1. การนับอสุจิต่อหน่วยปริมาตร (sperm count) ตามวิธีการของ กฤษณ์ มงคลปัญญา (2536) โดยใช้อุปกรณ์สำหรับนับเม็ดโลหิต (heamocytometer) ซึ่งจะปฏิบัติกับน้ำเชื้อสดเข้มข้นและน้ำเชื้อสดเจือจางเท่านั้น เพื่อให้ทราบจำนวนอสุจิก่อนจะดำเนินการในเรื่องอื่น ๆ ต่อไป โดยเจือจางน้ำเชื้อด้วยน้ำกลั่น 1:200 เขย่าให้ทั่ว ใช้ไมโครปิเปตดูดน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นแล้วใส่ลงไปในช่องทาง heamocytometer ให้เต็มพอดี ปิดด้วยกระจก (coverglass) ที่ออกแบบเป็นพิเศษแล้วทิ้งไว้อย่างน้อย 2-3 นาที เพื่อให้อสุจิตกลงสู่พื้นหรือหยุดนิ่ง นำมานับจำนวนด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400x โดยนับจำนวนอสุจิในช่องใหญ่ 4 มุม และตรงกลาง (รวม 5 ช่อง หรือ 80 ช่องเล็ก) รวมกัน เพื่อนำมาใช้คำนวณหาอสุจิต่อ 1 มิลลิลิตร โดยใช้ การคำนวณดังนี้

จำนวนอสุจิ/มิลลิลิตร = จำนวนช่องใหญ่ที่นับ x อัตราการเจือจาง x 10,000

2. การตรวจเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิ (motile sperm) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (100x) ซึ่งเป็นการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิทั้งในน้ำเชื้อสดเข้มข้น น้ำเชื้อสดเจือจาง หรือน้ำเชื้อเจือจางก่อนหรือหลังการเก็บรักษา โดยหยดน้ำกลั่น (20 ไมโครลิตร) บนสไลด์ ใช้เข็มเขี่ยหรือปลายไม้จิ้มฟันพลาสติกแตะตัวอย่างน้ำเชื้อดังกล่าว (~1 ไมโครลิตร) ลงบนสไลด์ใกล้หยดน้ำ แล้วลากน้ำมาสัมผัสกับน้ำเชื้อในขณะมองผ่านกล้องประเมินอสุจิที่เคลื่อนไหวเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยให้ 100 เปอร์เซ็นต์สำหรับอสุจิที่เคลื่อนไหวทั้งหมดภายใน field ที่มองผ่านกล้อง ให้ 50 เปอร์เซ็นต์สำหรับอสุจิที่เคลื่อนไหวเพียงครึ่งหนึ่งของ field และให้เปอร์เซ็นต์ลดหลั่นกันตามการเคลื่อนไหวที่มองผ่านกล้อง และให้ 0 เปอร์เซ็นต์สำหรับอสุจิที่ไม่มีการเคลื่อนไหวเลย

3. การตรวจเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ (fertilization) เป็นตรวจความสามารถของอสุจิในน้ำเชื้อที่เก็บรักษาในการเข้าผสมกับไข่สด และอัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ที่ได้รับการผสมเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อสด

สรุป

น้ำเชื้อปลาควรค่าแก่การเก็บรักษาอย่างยิ่ง เพราะการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลา มีประโยชน์อย่างมากในด้านการเพาะขยายพันธุ์ การปรับปรุงพันธุ์ของปลาชนิดต่าง ๆ ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหรือพันธุกรรม ซึ่งถือว่าเป็นการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ในด้านพันธุกรรม การคัดเลือกสายพันธุ์ หรือการใช้ประโยชน์ในอนาคต แต่ทั้งนี้และทั้งนั้นการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาก็ต้องศึกษาและพัฒนาวิธีการในการเก็บรักษาให้ดียิ่งขึ้น เพื่อที่จะได้คุณภาพน้ำเชื้อปลาที่ดีใกล้เคียงกับน้ำเชื้อสด

เอกสารอ้างอิง

กฤษณ์ มงคลปัญญา. 2536. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่เย็น หลักการ/วิธีการ/ประโยชน์. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธนะสิทธิ์ เหล่าประเสริฐ. 2533. บิ๊กอุยปลาเศรษฐกิจชนิดใหม่. วารสารสัตว์เศรษฐกิจ 34:79-82.

อนงคณ์ หัมพานนท์. 2539. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาสวายโดยวิธีแช่เย็น. วิทยานิพนธ์, วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2538. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Maurer,R.R. 1978. Freezing mammalian embryos : a review of techniques. Theriogenology, 9 : 45-67.

Suquet, M., G. Dorange, M.H. Omnes, Y.Normant, A. Le Roux and C. Fauvel. 1993. Composition of the seminal fluid and ultrastructure of the spermatozoa of turbot (*Scophtalmus maximus*). Journal of Fish Biology. 42 : 509-516.

http://home.kku.ac.th/pracha/Breeding.htm

http://www.trangfishery.com/seet/5_year_beug.pdf