บทคัดย่อ

244044

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาวิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาวด้วยวิธีแช่แข็ง ได้ศึกษาข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นสำหรับการพัฒนาการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็ง โดยได้ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อปลา ศึกษาผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์ต่อการเคลื่อนที่สเปิร์ม ศึกษาการพัฒนาวิธีการแช่แข็งน้ำเชื้อด้วยวิธีการต่างๆกัน ศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีต่อคุณภาพสเปิร์มและประเมินความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ของน้ำเชื้อแช่แข็ง พบว่า น้ำเชื้อปลากะพงขาวในช่วงฤดูผสมพันธุ์วางไข่มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพบางประการ โดยค่าความหนาแน่นของสเปิร์มมีค่าสูงสุดในช่วงกลางฤดูผสมพันธุ์วางไข่ ในขณะที่การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม และเปอร์เซนต์การมีชีวิตของสเปิร์มมีค่าไม่แตกต่างกันในช่วงฤดูผสมพันธุ์วางไข่ การทดสอบความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์ชนิดต่างๆ 10 ชนิด (propylene glycol, acetamide, glycerol, formamide, ethylene glycol, DMSO, ethanol, sucrose, trehalose, methanol) ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 4 ระดับ (5%, 10%, 15% และ 20%) ที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที ที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาว ปรากฏว่า propylene glycol, acetamide และ DMSO มีความเหมาะสมในการนำมาแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาว แต่เมื่อนำไปแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวปรากฏว่า DMSO ให้ผลดีที่สุดเพราะสเปิร์มมีการเคลื่อนที่หลังการละลาย (post-thaw sperm motility) สูงสุด การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวได้พัฒนาทั้งรูปแบบการใช้เครื่องมือลดอุณหภูมิอัตโนมัติ (controlled-rate programmable freezer) และการแช่แข็งอย่างง่ายๆในถังโฟม (simple cryopreservation) ภายในหลอดฟาง (French straw) ขนาด 0.25 มิลลิลิตร โดยพบว่าการแช่แข็งด้วยเครื่องมือลดอุณหภูมิอัตโนมัติได้ผลดีที่สุดเมื่อใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -10°C/นาทีในขณะที่การแช่แข็งอย่างง่ายให้ผลดีที่สุดเมื่อแช่แข็งน้ำเชื้อเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว 4 เซนติเมตร การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อให้สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อปริมาณมากขึ้นได้แช่แข็งน้ำเชื้อในหลอดฟาง ขนาด 0.25 และ 0.5 มิลลิลิตร และหลอดไครโอไวออล (cryovial) ขนาด 2 มิลลิลิตร ด้วยการใช้เครื่องมือลดอุณหภูมิอัตโนมัติทำการลดอุณหภูมิด้วยอัตรา -10°C/นาทีก่อนนำไปเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว พบว่าน้ำเชื้อแช่แข็งที่เก็บรักษาในหลอดฟางขนาด 0.5 ซีซี และหลอดไครโอไวออลขนาด 2 ซีซี มีผลทำให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหลังการละลาย (post-thaw sperm motility) มีค่าประมาณ 70% ในขณะที่น้ำเชื้อที่เก็บรักษาในหลอดฟางขนาด 0.25 ซีซี มีค่าประมาณ 25% หลังจากการเก็บรักษาผ่านไป 3 เดือน การศึกษาความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง พบว่าน้ำเชื้อแช่แข็งมีความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ได้ไม่แตกต่างจากการใช้น้ำเชื้อสดในการผสมเทียม และให้ค่าเปอร์เซนต์การฟักของไข่ที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$)

244044

การศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีต่อคุณภาพสเปิร์มในระยะเวลานาน 6 เดือน พบว่าคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งที่เก็บรักษาไว้นาน 6 เดือนมีคุณภาพไม่แตกต่างกับน้ำเชื้อสด เนื่องจากการเคลื่อนที่ และการมีชีวิตของสเปิร์มไม่แตกต่างกัน การศึกษาในครั้งนี้สามารถพัฒนาวิธีการแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่มีประสิทธิภาพ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลากะพงขาวได้ต่อไป

Abstract

244044

Cryopresrvation of seabass (*Lates calcarifer*) sperm was investigated to gain baseline information of cryoprotectant toxicity on sperm motility and develop suitable freezing protocols, based on studies about sperm quality, effects of cryoprotectants on sperm motility, various freezing methods, effects of storage period on post-thaw sperm quality and fertilization capacity. Change in sperm quality was observed with the presence of highest sperm concentrations during the peak of spawning season while sperm motility and sperm viability seemed to be unchanged. Ten cryoprotectants (propylene glycol, acetamide, glycerol, formamide, ethylene glycol, DMSO, ethanol, sucrose, trehalose, methanol) were used to dilute semen at four concentration levels (5, 10, 15 and 20%). After exposure for 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 and 180 min., propylene glycol, acetamide and DMSO were suitable cryoprotectants for further development of cryopreservation protocol although DMSO was the most suitable cryoprotectant. Cryopreservation of *L. calcarifer* sperm was accomplished based on development of freezing protocols using both controlled rate programmable freezer and simple cryopreservation in the Styrofoam box. The best freezing protocols from using a controlled rate programmable freezer was -10°C/min before plunging in liquid nitrogen whereas a simple cryopreservation was achieved by freezing above liquid nitrogen surface 4 cm before plunging in liquid nitrogen. Refinement of cryopreservation protocol was designed to cryopreserve a larger volume of milt based on freezing milt at -10°C/min in 0.25 and 0.5 mL French straw and 2 mL cryovial. Highest post-thaw sperm motility (about 70%) was observed in 0.5 mL French straw and 2 mL cryovial after storage in liquid nitrogen for 3 months while that preserved in 0.25 mL French straw was only 25%. Fertilization capacity of cryopreserved sperm was not significantly different with fresh sperm. Storage of cryopreserved sperm in liquid nitrogen for 6 months had sperm quality similar to that of fresh sperm. This studies developed sperm cryopreservation methods for seabass and could be applied for breeding purpose in this species.