บทคัดย่อ

โครงการวิจัยเรื่อง การ พัฒนาเทคนิคการเก็บรักษา น้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis asinina*) เพื่อการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ ได้ศึกษาการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยเป๋าฮื้อในสภาพต่างๆ และการเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อที่อุณหภูมิต่ำโดยไม่เจือจาง และเจือจางในสารละลายบัฟเฟอร์ รวมทั้งประเมินผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์ต่อการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม และผลของอัตราการลดอุณหภูมิและการเก็บรักษาต่อการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหลังการแช่แข็ง ผลการศึกษาพบว่าน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อที่รวบรวมออกมาใหม่ๆ สามารถเก็บแช่เย็นนาน 4 ชั่วโมง และยังคงมีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มสูง แต่น้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อที่อยู่ในน้ำทะเลมีการเลื่อนที่ของสเปิร์มสูงในระยะ 2 ชั่วโมงแรกเท่านั้น การให้ออกซิเจนสมทบในการแช่เย็นน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อ ช่วยยืดระยะเวลาเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นานกว่าไม่ใช้ออกซิเจนสมทบ โดย culture flask มีความเหมาะสมในการแช่เย็นน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อ การนำน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อมาเจือจางในสารละลายต่างๆ พบว่า การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยเป๋าฮื้อ ถูกควบคุมโดยแรงดันออสโมติกที่มีค่าสูงขึ้นเมื่อใช้สาร electrolyte และ non-electrolyte ในการกระตุ้นการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม การเจือจางน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อในสารละลายบัฟเฟอร์สูตรต่างๆ (artificial seawater, Ringer solution และ calcium free saline; Ca-F saline) ในอัตราส่วน 1:1, 1:2 และ 1:4 พบว่า Ca-F saline เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการแช่เย็นน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยไม่ควรเจือจางเกินอัตราส่วน 1 : 2 เพราะสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นานกว่าชุดการทดลองอื่นๆ การศึกษาความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์ต่อการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม ทำโดยนำน้ำเชื้อของหอยเป๋าฮื้อมาเจือจางใน สารละลายไครโอโพรเทคแทนท์ 6 ชนิด (dimethyl sulfoxide; DMSO, propylene glycol, acetamide, methanol, ethanol และ ethylene glycol) ที่ระดับความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน ตั้งแต่ 15 - 240 วินาที พบว่า DMSO, methanol และ ethylene glycol เป็นสารไครโอโพรเทคแทนท์ที่มีความเป็นพิษต่ำต่อน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อ การแช่แข็งน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อ โดยนำเอาน้ำเชื้อเจือจางด้วย DMSO ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% และลดอุณหภูมิด้วย เครื่องมือลดอุณหภูมิอัตโนมัติ ในอัตรา 2.5, 5, 7.5, 10 และ 12.5 องศาเซลเซียส/นาทีไปจนถึงอุณหภูมิสุดท้าย -40 หรือ -80 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเก็บรักษาในถังไนโตรเจนเหลว พบว่า การแช่แข็งน้ำเชื้อหอยเป๋าฮื้อด้วยการใช้ 5 %DMSO และใช้อัตราการลดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส/นาที มาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหลังการละลายสูงสุด

Abstract

Development of sperm preservation technology of abalone (*Haliotis asinina*) for commercial aquaculture was investigated. The purpose of the project was to evaluate sperm motility of *H. asinina* under various conditions and assess successful storage time of *H. asinina* sperm stored under non-diluted and diluted conditions, evaluate the effects of cryoprotectants on sperm motility and assess the effects of freezing rate and cryostorage on post-thawed sperm motility. Freshly collected sperm can be chilled-stored for 4 hrs with high motility while diluted sperm in seawater had high motility only during the fist two hrs of dilution. Supplementation of oxygen prolonged sperm motility as compared to the non-supplemented group. Tissue culture flask was suitable to chilled-stored of *H. asinina* sperm. Activation of *H. asinina* sperm with various solutions showed that sperm motility was regulated by high osmolality from both electrolyte and non-electrolyte solutions. Chilled storage of *H. asinina* sperm with artificial seawater, Ringer solution and calcium free saline (Ca-F saline) at ratios of 1:1, 1:2 และ 1:4 showed the suitability of Ca-F saline in storage of *H. asinina* sperm at ratios less than 1 : 2. Study on cryoprotectant toxicity on sperm motility, semen was diluted in one of six cryoprotectants (dimethyl sulfoxide; DMSO, propylene glycol, acetamide, methanol, ethanol และ ethylene glycol) at 5, 10, 15 and 20% for 15-240 seconds showed that DMSO, methanol and ethylene glycol were the least toxic cryoprotectants. Freezing of semen was performed by diluting semen in DMSO at 5, 10, 15 and 20% prior to cooling with controlled-rated programmable freezer at rates of 2.5, 5, 7.5, 10 and 12 °C/min to final temperatures of -40 or -80°C prior to cryostorage. Highest post-thawed sperm motility was obtained from a treatment using 5% DMSO and 10 °C/min to -80 °C.