

Abstract

การประยุกต์ใช้สมุนไพรไทยเพื่อการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคในคนและสัตว์น้ำในถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊ว (ปีที่ 2). **สุบัตติ นิมรัตน์., วิรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2556** มหาวิทยาลัยบูรพา. ศูนย์งานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

งานวิจัยเรื่อง การประยุกต์ใช้สมุนไพรไทยเพื่อการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคในคนและสัตว์น้ำในถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วในปีที่ 2 มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วแบบแช่แข็ง โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ตอน แก่ 1) การศึกษาถึงสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วแบบแช่แข็ง 2) ความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนต์ต่อถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วแบบแช่แข็ง 3) อัตราการลดอุณหภูมิต่อการแช่แข็งถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊ว และ 4) อุณหภูมิที่ใช้ในการละลายถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วต่อการมีชีวิตของสเปิร์มจากการศึกษาพบว่า **Ca-Free saline** เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วแบบแช่แข็ง ส่วนความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนต์ต่อการเก็บรักษาถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วแบบแช่แข็ง พบว่า **Sucrose** และ **DMSO** ที่ความเข้มข้น 5% และ 10% มีความเป็นพิษต่อสเปิร์มกุ้งแช่เบ๊วต่ำ เนื่องจากรักษาเปอร์เซ็นต์สเปิร์มที่มีชีวิตของกุ้งแช่เบ๊วสูงกว่าสารไครโอโพรเทคแทนต์ชนิดอื่น สำหรับอัตราการลดอุณหภูมิต่อการแช่แข็งถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วพบว่า การเติม **DMSO** ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 5% ในสารละลายบัฟเฟอร์ **Ca-Free saline** โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิเท่ากับ -1 องศาเซลเซียสต่อนาที จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25 องศาเซลเซียส ถึง -80 องศาเซลเซียส สามารถรักษาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสเปิร์มกุ้งแช่เบ๊วที่เก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวได้สูงกว่าการใช้อัตราการลดอุณหภูมิต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการศึกษาผลของอุณหภูมิในการละลายต่อสเปิร์มที่มีชีวิตของถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วแช่แข็ง พบว่าการละลายที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 5 นาที มีความเหมาะสมในการละลายถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วแช่แข็ง จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าวิธีการแช่แข็งถุงน้ำเชื้อกุ้งแช่เบ๊วในหลอด **Cryovial tube** ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ การใช้สารละลายบัฟเฟอร์ **Ca-Free saline** ที่เติม **DMSO** ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 5% เป็นสารไครโอโพรเทคแทนต์ โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิเท่ากับ -1 องศาเซลเซียสต่อนาที จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25 องศาเซลเซียสเท่ากับ -1 องศาเซลเซียสต่อนาที จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25 องศาเซลเซียส ถึง -80 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการละลายเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

The purpose of research work entitle
“application of Thai medicinal plants for removal of human

aquatic animal pathogenic bacteria in banana prawn (*Penaeus merguensis*) spermatophores ” in the second year was to optimize cryopreservation protocol of banana prawn spermatophore. The experiment was divided to 4 phases including determination of 1) suitable buffer solution for cryogenic storage of banana prawn spermatophore, 2) cryoprotant cytotoxicity on banana prawn sperm, 3) suitable cooling rate for cryostorage and 4) suitable temperature for thawing cryopreserved spermatophore of banana prawn. Results showed that Ca-Free saline was suitable buffer solution for cryopreservation of banana prawn spermatophore. For toxicity test of cryoprotectants on banana prawn spermatophore, sucrose and DMSO at 5% and 10% exhibited relatively less toxic because of retaining the significant percentage ($P < 0.05$) of viable sperm, compared to other cryoprotectants. In case of cooling-rate effect on cryostored banana prawn spermatophore, successful cryopreservation of spermatophores in liquid nitrogen was achieved by incorporation of 5% DMSO into Ca-Free saline following use a cooling rate of 1 C/min between 25 and -80C before storing in liquid nitrogen tank due to sustaining the higher percentage ($p > 0.05$) of sperm viability than that of other cooling rates. Optimal thawing was at 30C for 5 min. This study could be concluded that the most efficacious protocol for cryostorage of banana prawn spermatophore in 1.5-mL cryotube included dilution of the spermatophore in Ca-Free saline containing 5% DMSO as cryoprotectant with use a one-step cooling rate of 1C/min between 25 and -80C prior to submerging in liquid nitrogen and thawing cryostored spermatophore at 30C for 5 min.