

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : DBG5380032
ชื่อโครงการ : การพัฒนาเทคโนโลยีการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวที่อุณหภูมิต่ำเชิงพาณิชย์
ชื่อนักวิจัย : รองศาสตราจารย์ ดร. วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย
สังกัดภาควิชาวชิรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
รองศาสตราจารย์ ดร. สุภัณฑิต นิรมรัตน์
สังกัดภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
E-mail Address : verapong@buu.ac.th; subunti@buu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ : 1 ปี 6 เดือน

การพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวที่อุณหภูมิต่ำแบบแช่เย็น และแบบแช่แข็งเพื่อประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงได้ทำการวิจัย โดยในขั้นตอนแรกศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพสเปิร์มปลาดตะเพียนขาวในช่วงฤดูผสมพันธุ์วางไข่ พบว่าคุณภาพสเปิร์มปลาดตะเพียนขาวมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงฤดูผสมพันธุ์วางไข่ และพบว่าการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลาดตะเพียนขาวถูกควบคุมโดยค่าแรงดันออสโมติก โดยสเปิร์มจะมีการเคลื่อนที่เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารละลายที่มีแรงดันออสโมติกลดลง การแช่เย็นน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวในสภาพไม่เจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ พบว่าการใช้ถุงพลาสติก ziplock สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นานที่สุด โดยที่การให้ออกซิเจนสมทบช่วยยืดระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อให้นานมากกว่าการไม่ให้ออกซิเจนสมทบ การแช่เย็นน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวด้วยการเจือจางในสารละลายบัฟเฟอร์ พบว่าสารละลายบัฟเฟอร์ Calcium-free Hank's Balanced Salt Solution (Ca-F HBSS) มีความเหมาะสมมากที่สุดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่เย็น โดยอัตราการเจือจางน้ำเชื้อด้วย Ca-F HBSS ควรมีค่าไม่เกิน 1:2 น้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวที่เจือจางใน Ca-F HBSS และเก็บแช่เย็นไว้ 2 วันสามารถปฏิสนธิไข่ปลาดตะเพียนขาวได้ไม่แตกต่างจากน้ำเชื้อสด การศึกษาความเป็นพิษของสารโครีโอโพรเทคแทนต์ต่อการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลาดตะเพียนขาว พบว่าสารโครีโอโพรเทคแทนต์ที่นำมาทดสอบมีความเป็นพิษต่อสเปิร์มต่ำ จึงทำการแช่แข็งน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวด้วยวิธีการแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว และแช่แข็งด้วยเครื่องมือลดอุณหภูมิอัตโนมัติ พบว่า น้ำเชื้อในชุดการทดลองที่แช่แข็งด้วย 10% DMSO ในอัตราการลดอุณหภูมิ 5 หรือ 10 องศาเซลเซียส/นาที มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหลังการละลายมีค่าสูงสุดประมาณ 80% การพัฒนาวิธีการแช่แข็งน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวในปริมาณที่มากขึ้นใน Cryotube ได้ผลดีได้ผลดีเมื่อลดอุณหภูมิด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียส/นาที และละลายน้ำเชื้อที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถนำน้ำเชื้อที่ได้ไปใช้ในภาคการผลิตได้ต่อไป น้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวที่ได้แช่แข็งและเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว 1 เดือน ปฏิสนธิไข่ปลาดตะเพียนขาวได้ดีกว่าน้ำเชื้อสด การวิจัยในครั้งนี้สามารถพัฒนาวิธีการแช่เย็นและแช่แข็งน้ำเชื้อปลาดตะเพียนขาวที่มีประสิทธิภาพเพื่อสามารถนำไปใช้กับภาคการผลิตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ต่อไป

Keywords: ปลาดตะเพียนขาว; สเปิร์ม; การแช่เย็น; การแช่แข็ง; DMSO

Abstract

Project Code : DBG5380032
Project Title : Development of preservation technology for low temperature storage of common silver barb (*Puntius gonionotus*) semen at the commercial level
Investigator : Associate Prof. Verapong Vuthiphandchai
Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University
Associate Prof. Subuntith Nimrat
Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University
E-mail Address : verapong@buu.ac.th; subunti@buu.ac.th
Project Period : 1 year and 6 months

This purpose of this research was to develop appropriate technology for chilled storage and cryopreservation of common silver barb (*Puntius gonionotus*) sperm for aquaculture. Sperm quality of *P. gonionotus* changed during the spawning season. Sperm motility of *P. gonionotus* was controlled by the osmotic pressure in which initiation of sperm motility occurred after activation with lower osmolality. Chilled storage of fresh milt with plastic ziplock resulted in longer storage period compared to storage with other containers. Oxygen supplementation in fresh milt prolonged storage period in comparison with storage without oxygen supplementation. Extended milt preserved with Ca-F HBSS at 2-4°C had similar fertilization capacity with fresh milt. Study on cryoprotectant toxicity on sperm motility showed that tested cryoprotectants had low toxicity to sperm. Cryoprotectants were incorporated for freezing sperm in liquid nitrogen vapor or controlled-rate programmable freezer. Cryopreserved milt from the treatments using 10% DMSO and freezing at 5 or 10°C/min had the highest post-thaw sperm motility (80%). Development of a large-scale cryopreservation program of *P. gonionotus* sperm was successful with freezing of sperm within cryotube using a cooling rate of 5°C/min and thawing at 70°C. Cryopreserved sperm kept in liquid nitrogen 1 month showed lower fertilization capacity than fresh milt. This research provides efficient chilled storage and cryopreservation techniques for *P. gonionotus* sperm, which can be used in the production section of aquaculture.

Keywords: Silver barb; Sperm; Chilled storage; Cryopreservation; DMSO