บทคัดย่อ

การศึกษาความเป็นไปได้ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากระโห้โดยวิธีการแช่แข็ง แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 การทดลองดังนี้ 1) ผลของสาร extender ชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากระโห้แบบแช่แข็ง 2) ผลของอัตราการลดอุณหภูมิ ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากระโห้แบบแช่แข็ง และ 3) ผลของขนาดและภาชนะบรรจุ ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากระโห้แบบแช่แข็ง

สำหรับการทดลองที่ 1 มีการใช้สาร extenders 2 ชนิด (Hanks' balanced salt solution-HBSS, และ modified cortland solution-MC) ร่วมกับสาร cryoprotectant 3 ชนิด (dimethyl sulfoxide-DMSO, dimethyl acetamide-DMA และ propylene glycol- PG) ที่ระดับความเข้มข้น 5, 7.5 และ 10% สำหรับ DMSO และ DMA และที่ระดับความเข้มข้น 10, 15 และ 20% สำหรับ PG เก็บน้ำเชื้อเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำน้ำเชื้อแช่แข็งไปประเมินคุณภาพจากอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และอัตราการปฏิสนธิ พบว่าเมื่อใช้ 10% DMSO เป็นสาร cryoprotectant ร่วมกับ MC ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการปฏิสนธิสูงกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ ($P<0.05$) อีกทั้งยังให้อัตราการเคลื่อนที่ไม่แตกต่างกับการใช้น้ำเชื้อสด สำหรับการใช้ DMA เป็นสาร cryoprotectant พบว่าเมื่อใช้ 10% DMA ร่วมกับ HBSS ให้ผลอัตราการปฏิสนธิสูงกว่าทรีตเมนต์อื่น ๆ อย่างไรก็ตามการใช้ DMSO เป็นสาร cryoprotectant ให้อัตราการปฏิสนธิสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่มีการใช้ DMA เป็นสาร cryoprotectant สำหรับการใช้ PG ให้ผลอัตราการปฏิสนธิต่ำในทุกทรีตเมนต์ การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของอัตราการลดอุณหภูมิ ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากระโห้แบบแช่แข็ง โดยเลือกสาร extender และ cryoprotectant ที่ให้อัตราการปฏิสนธิดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 คือ 10% DMSO ร่วมกับ MC และ 10% DMA ร่วมกับ HBSS มาทำการศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิ โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิแบบ One-step และ Two-steps ร่วมกับอุณหภูมิสุดท้าย (Endpoint) 3 ระดับ (-40, -60 และ -80 °C) พบว่าการใช้ 10% DMSO ร่วมกับ MC ให้อัตราการปฏิสนธิสูงกว่าการใช้ 10% DMA ร่วมกับ HBSS ($P<0.05$) และในการทดลองที่ 3 ศึกษาผลของขนาดและภาชนะบรรจุที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากระโห้โดยวิธีแช่แข็งโดยการนำทรีตเมนต์ที่ให้อัตราการปฏิสนธิดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 คือ 10% DMSO ร่วมกับ MC และใช้อัตราการลดอุณหภูมิแบบ One-step ณ จุด end point -40 °C มาทำการศึกษาขนาดของภาชนะบรรจุ 5 ขนาด คือ (0.25, 0.5, 1, 2 และ 5 มิลลิลิตร) พบว่าการใช้ภาชนะบรรจุแบบ Straw ขนาด 0.25, 0.5 และ 1 ml และการใช้ cryovial ขนาด 2 และ 5 ml ไม่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และอัตราการปฏิสนธิ ($P>0.05$)

ABSTRACT

This present study examined the feasibility of cryopreservation of Giant barb, *Catlocarpio siamensis* sperm. Three major experiments were carried out: 1) the effects of extenders and cryoprotectants 2) the effects of freezing rates and 3) the effect of sizes and types of containers on the cryopreservation of *C. microlepis* sperm were investigated.

In the first experiment, effect of two extenders (Hanks' balanced salt solution-HBSS and modified cortland solution-MC) with three cryoprotectants (dimethyl sulfoxide-DMSO, dimethyl acetamide-DMA and propylene glycol- PG) at concentration of 5, 7.5 และ 10% for DMSO and DMA, and 10, 15, 20% for PG on the cryopreservation of *C. microlepis* sperm were investigated. Sperm were stored for 48 h in a liquid nitrogen container (-196 °C). They were then airthawed at room temperature (25 °C), and motility, viability and fertilization rates were assessed. The higher motility rates and fertilization rates ($P<0.05$) were achieved with the combination of 10% DMSO+MC. In addition, motility percentage was not difference with the control (fresh sperm). The highest fertilization rate of 12.88±1.10% (41% of fresh sperm) was resulting from10% DMA+HBSS. Among cryoprotectants used, DMSO as cryoprotectant yielded a higher fertilization rates compared to DMA or PG. The highest fertilization rate from each combination of extender and cryoprotectant from the first study (10% DMSO+MC and 10% DMA+HBSS) were used to investigate the effect of freezing rates (one-step and two-steps) with end point at -40, -60 and -80°C on the cryopreservation of *C. microlepis* sperm (experiment 2). Among treatments used the combination of 10% DMSO+MC yielded a higher motility, viability and fertilization rates than 10% DMA+HBSS. In the third experiment, the effect of sizes and types of the containers by using 10% DMSO+MC with one-step freezing rate at end point -40°C were determined. The results showed that sizes and types of the containers used did not affect fertilization, motility and viability percentages ($P>0.05$).