พิมพันธ์ ละดอกท่า: การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำ (*Labeochrysophekadion*) แบบแช่เย็นและแบบแช่แข็ง (CHILLED STORAGE AND CRYOPRESERVATION OF BLACK SHARKMINNOW (*Labeochrysophekadion*) SPERMATOZOA) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร.สมร พรชื่นชูวงศ์, 84 หน้า.

การศึกษาผลของการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำแบบแช่เย็นและแบบแช่แข็งได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้ 1) เพื่อศึกษาชนิดของสาร extender และระยะเวลาการเก็บที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำแบบแช่เย็น 2) เพื่อศึกษาชนิดของสาร extender ร่วมกับชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำแบบแช่แข็ง และ 3) เพื่อศึกษาชนิดของสาร activation solution ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำแบบแช่แข็ง

การศึกษาชนิดของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำแบบแช่เย็นใช้สาร extender 5 ชนิด (Modified Cortland solution-MC Hanks ' balanced salt solution-HBSS 0.9%NaCl Kurokura solution-KU และ Modified extender) และมีน้ำเชื้อสดเป็นกลุ่มควบคุม ทำการเจือจางน้ำเชื้อในสาร extender แต่ละชนิด และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5° C จากนั้นทำการทดสอบผลของสาร extender ต่ออัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิตและอัตราการปฏิสนธิที่ระยะเวลาเก็บ 1-5 วัน พบว่า ชนิดของสาร extender และระยะเวลาในการเก็บมีผลต่อคุณภาพของน้ำเชื้อปลากาดำโดยมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น (P<0.05) ในทุกทรีทเมนต์หลังจากระยะเวลาการเก็บรักษา 3 วัน พบว่าการใช้สาร Modified extender ให้อัตราการเคลื่อนที่ (61%) อัตราการมีชีวิต (59%) และอัตราการปฏิสนธิ (41% หรือ 59% ของน้ำเชื้อสด) สูงที่สุด (P<0.05) และจากการศึกษาหาความสัมพันธ์ (Correlation) ระหว่างอัตราการเคลื่อนที่กับลักษณะการเคลื่อนที่แบบต่างๆ (VAP VCL และ VSL) อัตราการมีชีวิต และอัตราการปฏิสนธิ พบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน (P<0.01)

การศึกษาผลของสาร extender ชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำแบบแช่แข็งโดยใช้สาร extender 2 ชนิด คือ Modified extender และ MC ร่วมกับสาร cryoprotectant 3 ชนิด (DMSO MeOH และ glycerol) ที่ระดับความเข้มข้น 5 10 และ 15% โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิที่ 10°C min^{-1} พบว่าการใช้สาร Modified extender ร่วมกับ 10% DMSO ให้อัตราการเคลื่อนที่ (54% หรือ 60% ของน้ำเชื้อสด) อัตราการมีชีวิต (63% หรือ 66% ของน้ำเชื้อสด) และอัตราการปฏิสนธิ (45% หรือ 64% ของน้ำเชื้อสด) ไม่แตกต่างจากการใช้สาร MC ร่วมกับ 15% DMSO (P>0.05) ซึ่งสูงกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ (P<0.05) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับความเข้มข้นของสาร cryoprotectant มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิตและอัตราการปฏิสนธิ ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำแบบแช่แข็งจากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเคลื่อนที่กับลักษณะการ

เคลื่อนที่แบบต่างๆ(VAP VCL และ VSL) อัตราการมีชีวิต และอัตราการปฏิสนธิ พบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน(*P*<0.01)

การศึกษาชนิดของสาร activation solution ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากาดำแบบแช่แข็งโดยนำทรีทเมนต์ที่ให้ผลอัตราการปฏิสนธิดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 (Modified extender ร่วมกับ 10% DMSO และ MC ร่วมกับ 15% DMSO)มาศึกษาโดยใช้สารactivation solution 5 ชนิด(Tap water 17mM NaCl+5 mMTris-HCl 50 mMNaClKCl (100 mM KCl+20 mMTris-HCl) และ SAS (50 mM NaCl+30 mM KCl+30 mMTris-HCl)) พบว่าการใช้50 mMNaClให้อัตราการเคลื่อนที่74% หรือ 81% ของน้ำเชื้อสด) ระยะเวลาในการเคลื่อนที่61(s) และอัตราการปฏิสนธิ50% หรือ 72% ของน้ำเชื้อสด)ดีที่สุด (*P*<0.05) จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเคลื่อนที่กับลักษณะการเคลื่อนที่แบบต่างๆ (VAP VCL และ VSL) ระยะเวลาในการเคลื่อนที่และอัตราการปฏิสนธิ พบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน(*P*<0.01)

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา ________________________

ปีการศึกษา 2558 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา__________________

PHIMPHAN LADOKTHA: CHILLED STORAGE AND CRYOPRESERVATION OF BLACK SHARKMINNOW (*Labeochrysophekadion*) SPERMATOZOA.

THESIS ADVISOR: SAMORN PONCHUNCHOOVONG, Ph.D., 84 PP.

CHILLED STORAGE/CRYOPRESERVATION/EXTENDER/
CRYOPROTECTANT/ACTIVATION SOLUTION/*Labeochrysophekadion*/SPERM

This study examined the feasibility of chilled storage and cryopreservation of black sharkminnow (*Labeochrysophekadion*) spermatozoa. Three major experiments were carried out:The first experiment was to investigatethe effect of extenders and the storage time on the chilled storage of *L.chrysophekadion* spermatozoa. The second experiment was to examine the effect of extenders and cryoprotectants onthe cryopreservationof *L. chrysophekadion* spermatozoa and the third experiment was to determine the effect of activation solutions on the frozen sperm of *L. chrysophekadion.*

The effects of five extenders (Modified Cortland solution-MC, Hanks' balanced salt solution-HBSS, 0.9%NaCl, Kurokura solution-KU and Modified extender) on the chilled storage of *L. chrysophekadion* sperm were investigated. Fresh sperm (undiluted sperm)was used as a control. Spermsamples were diluted with each extenderand refrigerated at 4-5ºC for five days. Motility, viability and fertilization rates were evaluated every day. Motility, viability and fertilization rates decreased significantly (P<0.05) with increasing storage time in all treatments. After a storage time of 3 days, the highest motility, viability and fertilization rates (61%, 59% and 41%,respectively) were achieved with the modified extender.In addition, this study

found that motility, parameters of velocity (VAP, VCL and VSL), viability and fertilization had a positive significant correlation (*P*<0.01).

The effects of two extenders (Modified extender andMC) andthreecryoprotectants (DMSO, MeOH and glycerol) at concentrations of 5, 10 and 15%, with the one-step freezing procedure (10°C min^{-1})on thecryopreservation of *L.chrysophekadion*spermatozoa were investigated.The highest motility (54% or 60% of control), viability (63% or 66% of control) and fertilization rates(45% or 64% of control) resulted from the combination of modified extender and 10% DMSO. These results were not significantly different from the combination of MC and 15% DMSO (*P*>0.05) and washigher than the other treatments (*P*<0.05).The three concentrations used (5, 10 and 15%) affected motility, viability and fertilization rates after cryopreservation. In addition, this study found that motility, parameters of velocity (VAP, VCL and VSL), viability and fertilization had a significant positive correlation (*P*<0.01).

The highest fertilization rate from the second experiment (modified extender +10% DMSO and MC+15% DMSO) was chosen to determine the effects of five activation solutions (Tap water, 17 mM NaCl+5 mMTris-HCl, 50 mMNaCl, 100 mM KCl+20 mMTris-HCl and SAS (50 mM NaCl+30 mM KCl+30 mMTris-HCl) on the frozen sperm of *L. chrysophekadion.* The highest percentage of motility (74% or 81% of control),duration time (61s) and fertilization rate (50% or 72% of control)were achieved with 50 mMNaCl.These results were significantly higher than the other treatments (*P*<0.05).In addition, this study found that motility, parameters of velocity (VAP, VCL and VSL),duration time and fertilization had a significant positive correlation (*P*<0.01).

School of Animal Production Technology Student's Signature_________________

Academic Year 2015 Advisor's Signature_________________