

## บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของสาร Cryoprotectants และอัตราการลดอุณหภูมิ (freezing rates) ต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาทรายโดยวิธีการแช่แข็งโดยเปรียบเทียบการใช้สาร cryoprotectant เพียงชนิดเดียว หรือใช้ combination cryoprotectants โดยมี 0.9% NaCl เป็นสาร extenders ร่วมกับอัตราการลดอุณหภูมิที่  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  เลือก cryoprotectant ที่ให้อัตราการปฏิสนธิไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมในปลาทรายมาประยุกต์ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเทโพ และศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับปลาทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว โดยใช้ French straw ขนาด  $250\text{ }\mu\text{l}$  เป็นตัวเก็บรักษาน้ำเชื้อ และมี Freezer control (CL 3300) และ Cryogenesis Version 4 เป็นตัวควบคุมการลดอุณหภูมิระหว่างขบวนการแช่แข็ง นำน้ำเชื้อปลาเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว ( $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำน้ำเชื้อปลาแช่แข็งมาละลายที่อุณหภูมิห้อง เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสาร cryoprotectants และอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง ผลการศึกษาพบว่า combination cryoprotectants ระหว่าง 10%DMSO+20%DMA, 10%DMSO+10%DMA และ 20%DMA+5%MeOH ให้เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิในปลาทรายไม่แตกต่างกับการใช้น้ำเชื้อสด ( $p>0.05$ ) เมื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเทโพ พบว่า Combination cryoprotectants ในแต่ละทรีตเมนต์ ดังกล่าวนั้น ให้เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิไม่แตกต่างกัน แต่ต่ำและแตกต่างจากน้ำเชื้อสด ( $P<0.05$ ) การลดอุณหภูมิที่  $5\text{ และ }10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  ในปลาทราย มีผลให้อัตราการปฏิสนธิไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม (น้ำเชื้อสด;  $p>0.05$ ) ส่วนในปลาเทโพนั้นพบว่าอัตราการลดอุณหภูมิที่  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  ร่วมกับการใช้ 10% DMSO+ 10% DMA เป็นสาร Cryoprotectant มีอัตราการปฏิสนธิไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม จากงานวิจัยในครั้งนี้สรุปได้ว่าการใช้ combination cryoprotectants ร่วมกันมากกว่าหนึ่งชนิด ในขบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาทรายแบบแช่แข็งนั้นสามารถเพิ่มอัตราการปฏิสนธิให้สูงกว่าการใช้ Cryoprotectant เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้พบว่าเทคนิคและวิธีการ การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาทราย สามารถไปประยุกต์ใช้กับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเทโพ ซึ่งเป็นปลาในกลุ่มเดียวกันได้ และพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการลดอุณหภูมิเป็น  $40\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  นั้นมีผลให้อัตราการปฏิสนธิในปลาทั้งสองชนิดมีแนวโน้มลดลง

## ABSTRACT

This present study examined the feasibility of cryopreservation of striped catfish, *Pangasinodon hypophthalmus* sperm. Two studies were carried out: (1) the effects of cryoprotectants and combination cryoprotectants on cryopreservation of *P. hypophthalmus* sperm and (2) the excellent treatments combination cryoprotectants from the study one, which showed high fertilization rates and did not difference from the control on the cryopreservation of *P. hypophthalmus* were applied to cryopreserve *P. larnaudii* sperm and investigate the effect of freezing rates on cryopreservation of both species. A controlled freezer (CL 3300) and Cryogenesis, version 4 was used to regulate the rate of freezing. Sperm were frozen using French straw (250  $\mu$ L) and stored for one week in a liquid nitrogen container. They were then air thawed at room temperature, and the effect of cryoprotectants and freezing rates on cryopreservation of *P. hypophthalmus* and *P. larnaudii* sperm were assessed. The fertilization rates of striped catfish sperm achieved with these three combination cryoprotectants (10% DMSO + 10% DMA, 10% DMSO + 20% DMA or 20% DMA + 5%MeOH) were not significantly different from the control (fresh sperm), ( $p>0.05$ ). These treatments were applied to cryopreserve *P. larnaudii* and found that fertilization rates among three treatments were not significantly different from the control (fresh sperm),  $p>0.05$ , but fertilization rate lower than the control. Fertilization rates of *P. hypophthalmus*, resulting from 5 and 10  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  were not significantly different from the control (fresh sperm),  $p>0.05$ . Similar result to the *P. larnaudii*, which showed that at 5  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  of freezing rate with the combination cryoprotectants of 10% DMSO + 10% DMA yield similar fertilization rate to the control. The results from this study indicated that combination cryoprotectants used can be improved fertilization rates of Pangasiids fish. In addition, increasing freezing rate up to 40  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  resulted in decrease of fertilizing ability of both species.