

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

การแข่งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ

สุกัญญา มากทรัพย์

23 ก.ย. 2557

343341

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวาริชศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กรกฎาคม 2557

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ สุกัญญา มากทรัพย์ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ วุดิพันธุ์ชัย)

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิมรรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑล แก่นมณี)

ประธาน

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ วุดิพันธุ์ชัย)

กรรมการ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิมรรัตน์)

กรรมการ

.....
(ดร.วันสุกร์ เสนานาญ)

กรรมการ

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....

กณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2557

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิยมรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้คำปรึกษา แก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มณฑล แก่นมณี (อาจารย์ประจำหลักสูตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง) และผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่าน ที่กรุณาตรวจแก้ไขและวิจารณ์ผลงาน ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ทุกท่านที่ได้ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่และคุณพี่ที่ทำให้ข้าพเจ้าสามารถเข้ามาศึกษาในมหาวิทยาลัย และเป็นมหาบัณฑิตที่สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และเจ้าหน้าที่ทุก ๆ ท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการยืมวัสดุอุปกรณ์ และความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ขอขอบคุณ นายปริญญา อันขวัญเมืองและเพื่อนร่วมงานทุกท่านที่สนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์นี้จนสำเร็จ

คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์ ขอมอบเป็นกตัญญูแด่เวทิตาแด่ บุพการี บุรพจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบนานเท่านานนี้

สุกัญญา มากทรัพย์

52910146: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วาริชศาสตร์)

คำสำคัญ: หอยนางรมปากจีบ/ คุณภาพสเปิร์ม/ การแช่แข็ง/ สารไครโอโพรเทคแทนท์

สุกัญญา มากทรัพย์: การแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ (SPERM CRYOPRESERVATION OF ROCK OYSTER (*Saccostrea cucullata*)). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, Ph.D., สุบัตติต นิมรัตน์, Ph.D. 52 หน้า. ปี. พ.ศ. 2557.

การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อ และการแช่เย็นน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea cucullata*) เพื่อทราบข้อมูลที่เป็นต่อการพัฒนาวิธีการแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ ได้แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพสเปิร์มหอยนางรมปากจีบตลอดทั้งปี พบว่า สเปิร์มหอยนางรมปากจีบมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ และค่าออสโมลาลิตีของน้ำเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างช่วงเวลาที่ศึกษา แต่พบว่าความหนาแน่นของสเปิร์ม และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของสเปิร์ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างช่วงเวลาที่ศึกษา การทดลองที่ 2 ศึกษาชนิดของสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของสเปิร์มของหอยนางรมปากจีบ และศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์และอัตราการลดอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ ผลการศึกษาพบว่า การนำน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบมาแช่เย็นที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียสในน้ำยาบัฟเฟอร์ 2 ชนิด คือ Calcium-free Hank's balanced salt solution (Ca-F HBSS) และ Calcium-free saline (Ca-F saline) พบว่าสเปิร์มที่เจือจางในน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F saline สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นานที่สุด 72 ชั่วโมง ซึ่งยังคงมีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเท่ากับ 17.78 ± 9.03 % เมื่อนำน้ำเชื้อมากระตุ้นด้วยน้ำทะเล ส่วนน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นาน 12 ชั่วโมง มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเท่ากับ 13.33 ± 5.77 % โดยน้ำเชื้อสดที่ไม่ผสมน้ำยาบัฟเฟอร์สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน 24 ชั่วโมง และการแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบที่ใช้ Ca-F saline ร่วมกับ DMSO, Propylene glycol และ Ethylene glycol ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 5%, 10% และ 15% แล้วนำไปลดอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ -3, -5, -7°C / min พบว่าการแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบโดยใช้ 10% DMSO และอัตราการลดอุณหภูมิที่ -3°C / min ให้ผลการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหลังการละลายดีที่สุด เท่ากับ 77.78 ± 3.39 %

52910146: MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS: *Saccostrea cucullata*/ SPERM QUALITY/ CRYOPRESERVATION/
CRYOPROTECTANT

SUKANYA MARKSUP: SPERM CRYOPRESERVATION OF ROCK OYSTER
(*Saccostrea cucullata*). ADVISORY COMMITTEE: VERAPONG VUTHIPHANDCHAI, Ph.D.,
SUBUNTITH NIMRAT, Ph.D. 52 P. 2014.

Sperm quality and sperm chilled storage of rock oyster (*Saccostrea cucullata*) were studied to obtain essential information for cryopreservation of *S. cucullata* sperm. Experiments were divided into two sections. The first experiment evaluated the change in sperm quality throughout the year. Sperm motility and seminal plasma osmolality were not significantly different ($P > 0.05$) among the sampling periods whereas sperm concentration and sperm viability showed significant difference ($P < 0.05$) among the sampling time. The second experiment examined the effect of sperm extender on storage of *S. cucullata* sperm, based on chilled storage at 2-4 °C using calcium-free Hank's balanced salt solution (Ca-F HBSS) and calcium-free saline (Ca-F saline). Longest successful storage period (72 hr.) was obtained from sperm chilled-stored with Ca-F saline, showing sperm motility about 17.78 ± 9.03 % after activation with seawater. The use of Ca-F HBSS can preserve sperm for 12 hr. with the presence of sperm motility about 13.33 ± 5.77 %. Fresh sperm that was not diluted with extender can be preserved for 24 hr. Cryopreservation of *S. cucullata* semen was performed with Ca-F saline and dimethylsulfoxide (DMSO), propylene glycol and ethylene glycol at final concentrations of 5%, 10% and 15% using freezing rate of -3, -5, -7 °C / min. Results showed that sperm frozen with 10% DMSO and -3 °C / min had highest post-thawed motility of 77.78 ± 3.39 %.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
สมมุติฐานการทดลอง.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
ขอบเขตการวิจัย.....	4
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	5
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
ลักษณะทางอนุกรมวิธาน.....	6
ลักษณะทั่วไปของหอยนางรมปากจีบ.....	7
ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของหอยนางรม.....	8
ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์.....	10
การกระจายของหอยนางรม.....	11
การเพาะพันธุ์หอยนางรม.....	11
การเก็บรวบรวมน้ำเชื้อหอยนางรม.....	14
การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ.....	14
การแช่แข็งน้ำเชื้อสัตว์น้ำ.....	16
สารละลายเอ็กซ์เทนเดอร์.....	20
สารไครโอโพรเทคแทนท์.....	21

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
การลดอุณหภูมิ.....	22
การละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง.....	23
ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการมีชีวิตรอดหลังแช่แข็ง.....	23
ชนิดและขนาดของหลอดบรรจุ.....	24
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	25
สัตว์ทดลอง.....	25
สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง.....	25
อุปกรณ์และสารเคมี.....	25
วิธีเก็บรวบรวมน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ.....	27
วิธีการทดลอง.....	30
การประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อ.....	33
4 ผลการวิจัย.....	34
การทดลองที่ 1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพสเปิร์มหอยนางรมปากจีบในช่วง ฤดูผสมพันธุ์วางไข่.....	34
การทดลองที่ 2 การแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ.....	35
การทดลองที่ 2.1 ศึกษาชนิดของสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ ของสเปิร์มของหอยนางรมปากจีบ.....	35
การทดลองที่ 2.2 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์ และอัตราการลดอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ.....	36
5 อภิปรายและสรุปผล.....	39
อภิปรายผล.....	39
การทดลองที่ 1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพสเปิร์มหอยนางรมปากจีบในช่วง ฤดูผสมพันธุ์วางไข่.....	39
การทดลองที่ 2 การแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ.....	41
การทดลองที่ 2.1 ศึกษาชนิดของสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ ของสเปิร์มของหอยนางรมปากจีบ.....	41

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
การทดลองที่ 2.2 ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารไคโรโอโทรเทคแทนท์ และอัตราการสาคอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อหอยนางรมปากจีบ.....	43
สรุปผลการทดลอง.....	45
ข้อเสนอแนะ.....	45
บรรณานุกรม.....	46
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	51

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ฤดูวางไข่และช่วงการเกิดลูกหอยนางรมในประเทศไทย.....	9
2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการแช่แข็งน้ำเชื้อสัตว์น้ำ.....	17
3 ข้อมูลการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสดของหอยนางรมปากจีบเป็นระยะเวลา 1 ปี.....	35
4 เพอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยนางรมปากจีบที่เจือจางน้ำยาบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS และ Ca-F saline.....	36
5 เพอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยนางรมปากจีบที่ใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -3°C / min ที่แช่แข็งด้วย DMSO, Propylene glycol และ Ethylene glycol ที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	37
6 เพอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยนางรมปากจีบที่ใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -5°C / min ที่แช่แข็งด้วย DMSO, Propylene glycol และ Ethylene glycol ที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	38
7 เพอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยนางรมปากจีบที่ใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -7°C / min ที่แช่แข็งด้วย DMSO, Propylene glycol และ Ethylene glycol ที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะด้านในเปลือกและด้านนอกเปลือกของหอยนางรมปากจีบ.....	7
2 อวัยวะภายในของหอยนางรม.....	8
3 วงจรชีวิตของหอยนางรม.....	10
4 การกระจายของหอยนางรมปากจีบ.....	11
5 ขั้นตอนการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง.....	20
6 หอยนางรมปากจีบ.....	28
7 การแกะหอยนางรม.....	29
8 บริเวณ gonad ของหอยนางรมปากจีบซึ่งมีสีครีมขาว.....	29
9 และสเปิร์มหอยนางรมปากจีบได้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า.....	30
10 น้ำเชื้อสดใส่ใน eppendorf tube วางบนน้ำแข็ง.....	30