คุณภาพเซลล์อสุจิ
และขนาดที่เหมาะสมของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius)
วัยเจริญพันธุ์จากบ่อเลี้ยง

นายบุญรัตน์ ประทุมชาติ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2534

ISBN 974-579-356-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017692
i17329826

SPERM QUALITY AND OPTIMAL SIZE OF MATURE MALE GIANT TIGER PRAWN (*Penaeus monodon* Fabricius) FROM POND-REARED STOCK.

Mr. Boonyarath Pratoomchat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Marine Science

Graduate School

Chulalongkorn University

1991

ISBN 974-579-356-6

Thesis Title Sperm Quality and Optimal Size of Mature Male Giant Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) from Pond-Reared Stock.

By Mr. Boonyarath Pratoomchat

Department Marine Science

Thesis Advisor Assistant Professor Somkiat Piyatiratitivorakul, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

.....Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

.....Chairman

(Professor Twesukdi Piyakarnchana, Ph.D.)

.....Thesis Advisor

(Assistant Professor Somkiat Piyatiratitivorakul, Ph.D.)

.....Thesis Co-advisor

(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

.....Member

(Associate Professor Sanha Panichajakul, Ph.D.)

.....Member

(Mr. Sompop Rungsupa)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

บุญรัตน์ ประทุมชาติ : คุณภาพเซลล์อสุจิและขนาดที่เหมาะสมของกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon Fabricius) วัยเจริญพันธุ์จากบ่อเลี้ยง (SPERM QUALITY AND OPTIMAL SIZE OF MATURE MALE GIANT TIGER PRAWN (Penaeus monodon Fabricius) FROM POND-REARED STOCK) อ.ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล และ ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 113 หน้า
ISBN 974-579-356-6

ได้ทำการศึกษาการประเมินคุณภาพเซลล์อสุจิของกุ้งกุลาดำขนาดต่าง ๆ ที่ได้จากบ่อเลี้ยงทดสอบด้วยวิธีการผสมเทียม แล้วเปรียบเทียบผลจากเปอร์เซ็นต์ของไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิที่มีรูปร่างปกติ ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิทั้งหมด นอเพลียส์มีชีวิตที่มีรูปร่างปกติ นอเพลียส์ที่มีรูปร่างปกติทั้งหมดและการฟักเป็นตัว รวมทั้งน้ำหนักถุงเก็บเซลล์อสุจิ จำนวนเซลล์อสุจิต่อถุง เปอร์เซ็นต์เซลล์อสุจิที่มีรูปร่างปกติ และเซลล์อสุจิซึ่งมีฤทธิ์ (active) ของกุ้งกุลาดำขนาดต่าง ๆ ที่ได้จากบ่อเลี้ยง ระหว่างกลุ่มที่ตัดก้านตาและไม่ตัดก้านตาของกุ้งเพศผู้จากบ่อเลี้ยง และระหว่างกุ้งเพศผู้จากบ่อเลี้ยงกับกุ้งเพศผู้จากธรรมชาติ

พบว่าขนาดของกุ้งเพศผู้มีผลต่อผลผลิตที่ได้รับจากการผสมเทียมทั้งหมด เมื่อใช้กุ้งเพศผู้ขนาด 60 - 70 กรัม จะให้เปอร์เซ็นต์ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิที่มีรูปร่างปกติ ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิทั้งหมด และการฟักเป็นตัวมากกว่ากุ้งเพศผู้ขนาด 30 - 40 กรัม และ 41 - 50 กรัม อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้กุ้งเพศผู้ขนาดใหญ่จะให้เปอร์เซ็นต์นอเพลียส์มีชีวิตที่มีรูปร่างปกติ และนอเพลียส์ที่มีรูปร่างปกติทั้งหมดสูงกว่ากุ้งเพศผู้ขนาดเล็กที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ

จากการตรวจสอบเซลล์อสุจิ พบว่ากุ้งเพศผู้จากบ่อเลี้ยงขนาด 60 - 80 กรัม ให้น้ำหนักถุงเก็บเซลล์อสุจิ และจำนวนเซลล์อสุจิต่อถุงมากกว่ากุ้งเพศผู้ขนาดเล็ก ในทางตรงกันข้าม กุ้งเพศผู้ขนาดเล็กที่สุด (22 - 40 กรัม) ให้เปอร์เซ็นต์เซลล์อสุจิที่มีรูปร่างปกติ และเซลล์อสุจิซึ่งมีฤทธิ์สูงกว่ากุ้งเพศผู้ขนาดใหญ่อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามกุ้งเพศผู้จากบ่อเลี้ยงที่เหมาะสมในการใช้เป็นพ่อพันธุ์ควรมีขนาดประมาณ 60 - 70 กรัม

เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพเซลล์อสุจิของกุ้งเพศผู้ทั้งภายในกลุ่ม และระหว่างกลุ่มที่ตัดก้านตาและไม่ตัดก้านตา เมื่อกระตุ้นถุงเก็บเซลล์อสุจิในครั้งถัดไป พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในทำนองเดียวกันกุ้งเพศผู้จากแหล่งธรรมชาติและกุ้งเพศผู้จากบ่อเลี้ยงให้คุณภาพเซลล์อสุจิไม่แตกต่างกัน ยกเว้นถุงเก็บเซลล์อสุจิที่กุ้งเพศผู้จากแหล่งธรรมชาติให้น้ำหนักมากกว่ากุ้งเพศผู้จากบ่อเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ

ในการศึกษาคุณภาพเซลล์อสุจิในท่อนำอสุจิและกระเปาะส่วนปลายสุด พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกระเปาะส่วนปลายสุดให้เปอร์เซ็นต์เซลล์อสุจิที่มีรูปร่างปกติมากกว่าท่อนำอสุจิ นอกจากนี้กุ้งกุลาดำเพศผู้จากบ่อเลี้ยงจะเริ่มแสดงความสมบูรณ์เพศที่ขนาด 13 กรัม หรือความยาวเปลือกคลุมหัว 28 มิลลิเมตร

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

สาขาวิชา ชีววิทยาทางทะเล

ปีการศึกษา 2533

ลายมือชื่อนิสิต .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

BOONYARATH PRATOOMCHAT : SPERM QUALITY AND OPTIMAL SIZE OF MATURE MALE GIANT TIGER PRAWN (Penaeus monodon Fabricius) FROM POND-REARED STOCK. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D. AND PROF. PIAMSAK MENASVETA, Ph.D., 113 PP. ISBN 974-579-356-6.

Sperm quality of pond-reared male Penaeus monodon Fabricius at different sizes was determined by artificial insemination. Evaluations on the percentages of morphological normality of fertilized eggs, total fertilized eggs, morphological normality of live nauplii, morphological normality of total nauplii, and total hatched nauplii were used to interpret the results. Additionally, spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, the percentages of morphological normality of sperm and active sperm were also used for studying sperm quality of pond-reared male at different sizes, eyestalk ablated and nonablated pond-reared males, wild and pond-reared males.

Productions of eggs and nauplii in artificial insemination were positively affected by male size. The percentages of morphological normality of fertilized eggs, total fertilized eggs, and total hatched nauplii in pond-reared male with size between 60 g and 70 g body weight showed significantly higher than that of small sizes (36 - 40 g and 41 - 50 g). The larger sizes also showed significantly higher the percentages of morphological normality of both live and total nauplii than the smallest one.

Based on sperm examination, spermatophore weight and number of sperm per spermatophore of pond-reared male size of 60 g to 80 g body weight showed significantly higher than the smaller size groups. In contrast, the percentages of morphological normality of sperm and active sperm in the smallest size (22 - 40 g) showed significantly higher than the larger ones. However, the optimal size of pond-reared males that may be recommended for broodstock should to be between 60 g and 70 g body weight.

The result of sperm quality showed no significant different with spermatophore ejaculation frequency compared either within or between nonablated and eyestalk ablated pond-reared males. Wild and pond-reared males were similar in sperm quality, except spermatophore weight of wild males showed significantly higher than pond-reared males.

The study of sperm quality between in vas deferens and terminal ampouls showed significant difference in both organ, but the sperm in terminal ampoles is more normal than that of in vas deferens. In addition, the result of the present study estimated that pond-reared male size of 13 g body weight or 28 mm in carapace length could exhibit the initial maturation.

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

สาขาวิชา ชีววิทยาทางทะเล

ปีการศึกษา 2533

ลายมือชื่อนิสิต B. Pratoomchat

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Somkiat Piyatiratitivorakul

ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

ACKNOWLEDGMENTS

This work is made possible through the authorization and permission of Mr. Preeda Buranavatana, Mr. Ekapol Vanakosum, Dr. Nuanmanee Roongratri, and Mr. Somsak Chullasorn in allowing the use ponds and facilities. I would like to express my great appreciation for their kindness.

I wish to express my honest gratitude to Dr. Somkiat Piyatiratitivorakul, advisor and Dr. Piamsak Menasveta, co-advisor for their helpful suggestions, supports, and invaluable assistance during this research, and to Dr. Twesukdi Piyakarnchana, Dr. Sanha Panichjayakul and Mr. Sompop Rungsupa for kindly serving on my committee and second reader of this thesis.

A special thank is due to Dr. Jean Francois Rees for reviewing the manuscript.

I wish to express sincere thanks to Mr. Manoch Roongratri, Mr. Joompol Sanguansin, Mr. Pongchai Pitipornchai, Mr. Nopadol Kakhai, Mr. Uchukorn Pluckpongrat, Miss Penjai Sompongchaiyakul, Mr. Sorawit Powtongsook and friends in Department of Marine Science for their contribution and support to this work. In addition, I extend my extremely sincere thanks to Miss Panadda Chonlatharnchaiyasit for her heartfelt typing of the manuscript.

This work was supported by Science and Technology Development Board (STDB) Grant No. DSN 87A-1-06-085 and partly by the Graduate School, Chulalongkorn University, which I also acknowledge gratefully.

Lastly, the greatest, to my parents, grandmother and sister for their understanding, support, patience, and for just being.

TABLE OF CONTENTS

Page

Thai Abstract.....iv

English Abstract.....v

Acknowledgments.....vi

List of Tables.....vii

List of Figures.....ix

List of Appendices.....xiii

Chapters

I. Introduction.....1

II. Materials and Methods.....15

III. Results.....26

IV. Discussions.....62

V. Conclusions and Recommendations.....78

References.....81

Appendices.....90

Biography.....113

LIST OF TABLES

Table | Page

1 Results of electroejaculated spermatophore transplantation of pond-reared males *Penaeus monodon*.....27

2 Comparative results of electroejaculated spermatophore transplantation of pond-reared males at interval sizes in uncopulated soft thelycum females *Penaeus monodon*.....38

3 Results of spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, percentages of morphological normality of sperm and active sperm from pond-reared *Penaeus monodon* at different sizes.....42

4 Comparison of average spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, percentages of morphological normality of sperm and active sperm among interval sizes of males *Penaeus monodon*.....53

5 Results of spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, percentages of morphological normality of sperm and active sperm of normal and ablated pond-reared *Penaeus monodon* at different sizes.....55

Table Page

6 Results of spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, percentage of morphological normality of sperm and active sperm of wild and pond-reared *Penaeus monodon*.....57

7 Comparison of spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, percentage of morphological normality of sperm, and active sperm between wild and pond-reared *Penaeus monodon*.....57

LIST OF FIGURES

Figure Page

1 Apparatus for electroejaculation and artificial insemination of prawn, *Penaeus monodon*.....18

2 Electroejaculation technique of male *Penaeus monodon*.....18

3 Artificial insemination of prawn, *Penaeus monodon*.....21

4 Relationship between the percentage of morphological normality of fertilized eggs and body weight of male *Penaeus monodon*.....28

5 Relationship between the percentage of total fertilized eggs and body weight of male *Penaeus monodon*.....29

6 Relationship between the percentage of morphological normality of live nauplii and body weight of male *Penaeus monodon*.....29

7 Relationship between the percentage of morphological normality of total nauplii and body weight of male *Penaeus monodon*.....30

8 Relationship between the percentage of total hatched nauplii and body weight of male *Penaeus monodon*.....30

Figure Page

9 Relationship between the percentage of morphological normality of fertilized eggs and carapace length of female per spermatophore weight.....32

10 Relationship between the percentage of total fertilized eggs and carapace length of female per spermatophore weight.....32

11 Relationship between the percentage of total hatched nauplii and carapace length of female per spermatophore weight.....33

12 Relationship between the percentage of morphological normality of fertilized eggs and spermatophore weight of male *Penaeus monodon*.....33

13 Relationship between the percentage of total fertilized eggs and spermatophore weight of male *Penaeus monodon*.....34

14 Relationship between the percentage of total hatched nauplii and spermatophore weight of male *Penaeus monodon*.....34

15 Relationship between the percentage of total hatched nauplii and duration of sperm storage in thelycum female *Penaeus monodon*.....36

Figure Page

16 Comparison of the mean percentage of the morphological normality of fertilized eggs at interval sizes of pond-reared *Penaeus monodon*.....39

17 Comparison of the mean percentage of total fertilized eggs at interval sizes of pond-reared *Penaeus monodon*.....40

18 Comparison of the mean percentage of the morphological normality of live nauplii at interval sizes of pond-reared *Penaeus monodon*.....40

19 Comparison of the mean percentage of the morphological normality of total nauplii at interval sizes of pond-reared *Penaeus monodon*.....41

20 Comparison of the mean percentage of total hatched nauplii at interval sizes of pond-reared *Penaeus monodon*.....41

21 Light micrograph representation of the surface topography of a morphological normality of sperm, *Penaeus monodon*.....43

22 Light micrograph representation of the characteristics of the morphological abnormalities of sperms, *Penaeus monodon*.....44

23 Light micrograph representation of morphological change in active sperm, *Penaeus monodon*.....46

Figure Page

24 Relationship between average spermatophore weight and body weight of male *Penaeus monodon*.....47

25 Relationship between number of sperm per spermatophore and body weight of male *Penaeus monodon*.....49

26 Relationship between number of sperm per spermatophore and average spermatophore weight.....49

27 Relationship between percentage of active sperm and percentage of morphological normality of sperm.....51

28 Relationship between the percentage of morphological normality of sperm and ejaculated spermatophore frequency in ablated male *Penaeus monodon*.....54

29 Relationship between the percentage of morphological normality of sperm in terminal ampoules and petasma length of male *Penaeus monodon*.....60

30 Relationship between petasmal length and carapace length of male *Penaeus monodon*.....60

31 Relationship between petasmal length and body weight of male *Penaeus monodon*.....61

32 Relationship between the percentage of morphological normality of sperm in terminal ampoules and in vas deferens of male *Penaeus monodon*.....61

LIST OF APPENDICES

Page

Appendix 1 Results of electroejaculated spermatophore transplantation of pond-reared males in uncopulated soft thelycum *Penaeus monodon*.....90

Appendix 2 Results of average spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, percentages of morphological normality of sperm and active sperm of pond-reared *Penaeus monodon*.....92

Appendix 3 Showed average spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, percentages of morphological normality of sperm and active sperm of nonablated and unilateral eyestalk ablated pond-reared *Penaeus monodon*.....102

Appendix 4 Comparison of average spermatophore weight, number of sperm per spermatophore, percentages of morphological normality of sperm and active sperm between wild and pond-reared *Penaeus monodon*.....105

Appendix 5 Showed male sizes, percentage of morphological normality of sperm among terminal ampoules, vas deferens, and testes of pond-reared *Penaeus monodon*.....111