

การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาสายแบบแช่แข็ง

พัชร มงคลวัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวาริชศาสตร์

28 ต.ค. 2546

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

มีนาคม 2546

170261

ISBN 974-9603-10-9

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์
ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)
..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร์ เหล็กม้วน)
..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภัทนต์ นิมรัตน์)

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)
..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร์ เหล็กม้วน)
..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภัทนต์ นิมรัตน์)
..... กรรมการ
(ดร.วรเทพ มุขสุวรรณ)
..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประทุม ม่วงมี)

วันที่ 31 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2546

ประกาศคุณูปการ

ขอกราบขอบพระคุณสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตร
สกลนคร ที่กรุณาอนุญาตให้ลาศึกษาต่อและสนับสนุนให้ทุนการศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย ประธานกรรมการที่
ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์.ดร.เกษนทร เถลิมวัฒน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.สุบัณฑิต
นัมรัตน์ กรรมการที่ปรึกษาฯ เป็นอย่างยิ่งที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจน
ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณอนันต์ บุญอินทร์ โครงการศึกษาพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์
น้ำจืดในเชิงพาณิชย์จังหวัดนครสวรรค์ ฉลองพันธุ์ปลา ประทุมฟาร์ม ป.เจริญฟาร์ม จังหวัด
ละโว้ และเอื้อสุขฟาร์มปลา จังหวัดสมุทรปราการ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์น้ำเชื้อปลาและ
พ่อแม่พันธุ์ปลาสายตลอดการทดลอง

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่กรุณาให้คำอบรมสั่งสอนและเป็นแรงบันดาลใจให้
ศึกษาต่อ ขอขอบคุณ คุณเจริญ มงคลวัย ที่เป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านและเสียสละ
ดูแลลูก ๆ เพียงลำพังอย่างเหน็ดเหนื่อย คุณทวีสิน พิชพิสุทธิ์ ที่กรุณาช่วยทำการทดลองตั้งแต่เริ่มจน
แล้วเสร็จ คุณอภิชา แยมเกษร ที่เอื้อเฟื้อสถานที่พักอาศัย และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และ
น้อง ๆ รวมถึงผู้ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง

พัชรี้ มงคลวัย

43910852: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วทม. (วาริชศาสตร์)

คำสำคัญ: การทำน้ำเชื้อแช่แข็ง/น้ำยาสำหรับเจือจางน้ำเชื้อ/สารไครโอโพรเทคแทนท์

พัชร มงคลวัย: การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาสวายแบบแช่แข็ง (CRYOPRESERVATION OF STRIPED CATFISH (*Pangasianodon hypophthalmus*) SPERMATOZOA)

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์: วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, Ph.D., คชนทร เฉลิมวัฒน์, Ph.D.,
สุบัตินัต นิมรัตน์, Ph.D. 81 หน้า. ISBN 974-9603-10-9

การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาสวายแบบแช่แข็งด้วยน้ำยาทั้ง 7 สูตร ได้แก่สูตร cortland salt solution, modified cortland salt solution, frog ringer's solution, hang balance salt solution, calcium-free hang balance salt solution, extender 7 และ 0.85% NaCl ที่อุณหภูมิ 0-4 °ซ เมื่อนำมาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวและเปอร์เซ็นต์ตัวสpermามีชีวิตทุกวัน พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < .05$) คือน้ำยาสูตร extender 7 สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้ดีกว่าสูตรอื่นๆ และการใช้อัตราเจือจางของน้ำเชื้อต่อน้ำยาทั้ง 3 อัตราส่วน (1:1, 1:2 และ 1:4) ให้ผลการเก็บรักษาไม่แตกต่างกัน ($p > .05$) ในการทดสอบความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4 ชนิด (glycerol, dimethyl sulfoxide (DMSO), propylene glycol และ sucrose) ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที เพื่อหา equilibration time ช่วง 0-30 นาทีแรกมีความเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ทดลองแช่แข็งน้ำเชื้อปลาสวาย การทดสอบอัตราการลดอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็ง 3 ระดับ (-3, -5 และ -10 °ซ/นาที) และอุณหภูมิที่ใช้ในการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง 3 ระดับ (40, 60 และ 80 °ซ) ให้ผลการเก็บรักษาไม่ต่างกันทางสถิติ ($p > .05$) แต่ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์ให้ผลการทดลองที่ต่างกัน ($p < .05$) คือ DMSO ให้ผลการเก็บรักษาที่ดีที่สุด และระดับความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ที่ 9% มีความเหมาะสมกว่าที่ระดับอื่น แต่มีเพียงที่ 3% DMSO เท่านั้นที่มีการปฏิสนธิกับไข่ปลาสวาย (38.67%)

43910852 : MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M. Sc.(:AQUATIC SCIENCE)

KEY WORD : CRYOPRESERVATION, CRYOPROTECTANT, EXTENDER,

EQUILIBRATION TIME

PATCHAREE MONGKOLVAI : CRYOPRESERVATION OF STRIPED CATFISH

(*Pangasianodon hypophthalmus*) SPERMATOZOA. THESIS ADVISORS : VERAPONG

VUTHIPHANDCHAI, Ph.D., KACHANE CHALEAMWATT, Ph.D., SUBUNTITH

NIMRAT, Ph.D. 81 P. ISBN 974-9603-10-9

Short-term storage studied of *Pangasianodon hypophthalmus* (striped catfish) milt was conducted with 7 extenders; cortland salt solution, modified cortland salt solution, frog ringer's solution, hang balance salt solution, calcium-free hang balance salt solution, extender 7 and 0.85% NaCl. Milt was diluted in each extender and stored in an ice box. (0-4°C). The percentage of sperm motility and viability of spermatozoas was examined every day. The results showed that the "extender 7" was most suitable in terms of sperm qualities. There was no significant differences ($p > .05$) on the percentage of sperm qualities after the milt was diluted at three dilutions, 1:1, 1:2 and 1:4 in each extender. In order to determine the optimum equilibration time with five cryoprotectants; glycerol, dimethyl sulfoxide (DMSO), propylene glycol and sucrose of 3, 6, 9, 12 and 15% concentrations were prepared and evaluated for toxicity on the percentage of sperm motility at time periods; 30, 60, 90 and 120 minutes after the beginning of the experiment. The results showed that the suitable equilibration time should not be over 0-30 minutes. Freezing rates for cryopreservation; -3, -5 and -10 °C/min. and thawing temperatures; 40, 60, 80 °C were tested. The results indicated no significant differences ($p > .05$) in freezing rates and thawing temperatures. The use of 9% DMSO seemed to be most suitable media for cryoprotectant. Fertilization rate (39%±1.2) was successful only in treatment using 3% DMSO as compared to the freshly collected milt control(100%).

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่	

1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	4
ข้อจำกัดของการวิจัย.....	4
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
อนุกรมวิธานและชีววิทยาบางประการของปลาสร้อย.....	5
ระบบสืบพันธุ์ของปลาเพศผู้และอสุจิ.....	7
การเก็บรวบรวมและการเก็บรักษาน้ำเชื้อ.....	8
การตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ.....	19
3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	22
การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาสูตรต่าง ๆ ที่มีผลในการเก็บรักษาน้ำเชื้อในน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส.....	22
การทดลองที่ 2 ศึกษาความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์.....	26

การทดลองที่ 3 ศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิในขั้นตอนการแช่แข็งและอัตราการเพิ่มอุณหภูมิในการละลายน้ำแข็งแช่แข็ง เพื่อใช้ในการผสมเทียม.....	28
การลดอุณหภูมิก่อนการแช่แข็ง.....	28
การละลายน้ำแข็งแช่แข็ง.....	30
การทดสอบการปฏิสนธิ.....	31
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	32
การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาสูตรต่างๆ ที่มีผลในการเก็บรักษาน้ำเชื้อในน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส.....	32
การทดลองที่ 2 ศึกษาความเป็นพิษของสาร ไคร โอ โพรเทกแทนท์ที่มีต่อน้ำเชื้อ.....	37
การทดลองที่ 3 ศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิในขั้นตอนการแช่แข็งและอัตราการเพิ่มอุณหภูมิในการละลายน้ำแข็งแช่แข็ง เพื่อใช้ในการผสมเทียม.....	40
การลดอุณหภูมิก่อนการแช่แข็งและการละลายน้ำแข็งแช่แข็ง.....	40
การทดสอบการปฏิสนธิ.....	45
5 สรุปและอภิปรายผล.....	48
อภิปรายผลการทดลอง.....	48
ประสิทธิภาพของน้ำยาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาสวายแบบแช่เย็น.....	48
ประสิทธิภาพของสาร ไคร โอ โพรเทกแทนท์.....	50
การทำน้ำเชื้อปลาสวายแช่แข็ง.....	51
สรุปผลการทดลอง.....	53
บรรณานุกรม.....	54
ภาคผนวก.....	59
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	81

สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้า

1	ส่วนประกอบทางเคมี ออสโมลาลิตี และ pH ของสูตรน้ำยาต่าง ๆ เพื่อเก็บรักษา น้ำเชื้อปลาสวายในตู้เย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส.....	25
2	ปริมาณของน้ำยา น้ำเชื้อ และสารไครโอโพรเทคแทนท์ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ..	27
3	การเตรียมสารละลาย sucrose 3,6,9,12, และ 15 เปอร์เซ็นต์จาก 30 เปอร์เซ็นต์.....	27
4	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิ เมื่อทำการตรวจที่เวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที หลังผสมน้ำเชื้อกับน้ำยา extender 7 ที่มีส่วนผสมของสาร ไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์.....	39
5	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสาร ไครโอโพรเทคแทนท์ทั้ง 4 ชนิด ด้วยอัตราการลดอุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียส/นาที ภายหลังการละลายที่อุณหภูมิ น้ำ 60 องศาเซลเซียส.....	46
6	เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิของน้ำเชื้อปลาสวายแช่แข็งกับไข่ปลาสวายสด ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสาร ไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4 ชนิด ด้วยอัตราการลด อุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียส/นาที ภายหลังการละลายที่อุณหภูมิ น้ำ 60 องศาเซลเซียส..	47
7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิภายหลังการเก็บ รักษาในน้ำยาสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ น้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน.....	59
8	การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างทรีตเมนต์เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว ของอสุจิภายหลังการเก็บรักษาในน้ำยาสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ น้ำแข็ง 0-4 องศา เซลเซียส นาน 4 วัน.....	59
9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิตภายหลังการเก็บรักษาในน้ำยา สูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ น้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน.....	60
10	การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างทรีตเมนต์เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิต ภายหลังการเก็บรักษาในน้ำยาสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ น้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน.....	60
11	การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิภายหลัง การเก็บรักษาในน้ำยาสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ น้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน...	61

- 12 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของตัวอสุจิมีชีวิตของอัตราส่วน
น้ำเชื้อต่อน้ำยาที่เก็บรักษาในน้ำยาสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิน้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส
วันที่ 2-4 ของการทดลอง..... 61
- 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิภายหลังการ
ผสมน้ำเชื้อด้วยน้ำยา extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4
ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจวัดที่เวลา 0, 30,
60, 90 และ 120 นาที..... 62
- 14 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของการเคลื่อนไหวของอสุจิภายหลังการผสม
น้ำเชื้อด้วยน้ำยา extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์ทั้ง 4 ชนิด ที่
ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจวัดที่เวลา 0, 30, 60, 90
และ 120 นาที..... 62
- 15 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของการเคลื่อนไหวของอสุจิภายหลังการผสม
น้ำเชื้อด้วยน้ำยา extender 7 ที่มีส่วนผสมของไครโอโพรเทคแทนท์ทั้ง 4 ชนิด ที่
ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจวัดที่เวลา 0, 30, 60, 90
และ 120 นาที..... 63
- 16 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของการเคลื่อนไหวของอสุจิภายหลังการผสม
น้ำเชื้อด้วยน้ำยา extender 7 ที่มีส่วนผสมของไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4 ชนิด ที่
ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์..... 63
- 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิปลาซวยแซ่แข็ง
นาน 7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4
ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยวัดอัตราการลดอุณหภูมิ
(-3, -5 และ -10 องศาเซลเซียส ด้วย f control) ภายหลังการละลาย..... 64
- 18 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิแช่แข็งนาน
7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4 ชนิด
ภายหลังการละลาย (ที่อุณหภูมิ 40, 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส) 65
- 19 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิแช่แข็งนาน
7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4 ชนิด
ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์..... 65

20	การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิแช่แข็งนาน 7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่อัตราการลดอุณหภูมิ -3, -5 และ -10 องศาเซลเซียส/นาที่.....	66
21	การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิแช่แข็งนาน 7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4 ชนิด ภายหลังการละลาย (ที่อุณหภูมิ 40, 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส)	66
22	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิปลาสวายเป็นแช่แข็งนาน 7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ทั้ง 4 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปอร์เซ็นต์โดยวัดอัตราการลดอุณหภูมิ (-3, -5 และ -10 องศาเซลเซียส/นาที่ ด้วย freeze control ภายหลังการละลาย (ที่อุณหภูมิ 40, 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส)	67
23	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์(DMSO กับ propylene glycol) ด้วยอัตราการลดอุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียส/นาที่ ภายหลังการละลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส.....	75
24	เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิของน้ำเชื้อปลาสวายเป็นแช่แข็งกับไข่ปลาสวายเป็นสด ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนท์ (DMSO กับ propylene glycol) ด้วยอัตราการลดอุณหภูมิ -5 องศาเซลเซียส/นาที่ ภายหลังการละลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส.....	75
25	องค์ประกอบทางเคมี ค่าออสโมลาลิตี และ pH ของของเหลวในน้ำเลือด (blood serum) และของเหลวในน้ำเชื้อ (seminal plasma) ของปลาน้ำจืด	76

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ปลาสาวย (striped catfish).....	7
2 ขั้นตอนการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง.....	12
3 โปรแกรมที่ 1 ลดอุณหภูมิอัตรา -3 องศาเซลเซียส/นาทิจ.....	29
4 โปรแกรมที่ 2 ลดอุณหภูมิอัตรา -5 องศาเซลเซียส/นาทิจ.....	29
5 โปรแกรมที่ 3 ลดอุณหภูมิอัตรา -10 องศาเซลเซียส/นาทิจ.....	30
6 เพอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวเฉลี่ยของอสุจิ ภายหลังการเก็บรักษาในน้ำยา 7 สูตร ที่อัตราเจือจางน้ำเชื้อต่อน้ำยา 1:1, 1:2 หรือ 1:4 ที่อุณหภูมิน้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส วันที่ 1, 2, 3 และ 4 ของการทดลอง.....	33
7 แนวโน้มเพอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวเฉลี่ยของอสุจิ ภายหลังการเก็บรักษาในน้ำยา 7 สูตร ที่อัตราเจือจางน้ำเชื้อต่อน้ำยา 1:1, 1:2 หรือ 1:4 ที่อุณหภูมิน้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส วันที่ 1, 2, 3 และ 4 ของการทดลอง.....	34
8 เพอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิตเฉลี่ยจากการย้อมสี ภายหลังการเก็บรักษาในน้ำยา 7 สูตร ที่อัตราเจือจางน้ำเชื้อต่อน้ำยา 1:1, 1:2 หรือ 1:4 ที่ อุณหภูมิน้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส วันที่ 2, 3 และ 4 ของการทดลอง.....	35
9 แนวโน้มเพอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิตเฉลี่ยจากการย้อมสี ภายหลังการเก็บรักษาในน้ำยา 7 สูตร ที่อัตราเจือจางน้ำเชื้อต่อน้ำยา 1:1, 1:2 หรือ 1:4 ที่ อุณหภูมิน้ำแข็ง 0-4 องศาเซลเซียส วันที่ 2, 3 และ 4 ของการทดลอง.....	36
10 เพอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิละเลี่ยภายหลังการผสมน้ำเชื้อในน้ำยา extender 7 ด้วยสารไครโอโพรเทคแทนท์ทั้ง 4 ชนิด คือ glycerol, DMSO, propylene glycol และ sucrose ที่ระดับความเข้มข้น 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 เพอร์เซ็นต์ ทำการตรวจวัดนาทิจที่ 0, 30, 60, 90 และ 120.....	38
11 เพอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิปลาสาวยแช่แข็ง ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มี DMSO เป็นสารไครโอโพรเทคแทนท์ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เพอร์เซ็นต์โดยวัดอัตราการลดอุณหภูมิ -3, -5 และ -10 องศาเซลเซียส/นาทิจ ภายหลังการละลาย (ที่อุณหภูมิ 40, 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส)	41

- 12 เปรอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิปลาสวายแช่เจีงนาน 7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มี glycerol เป็นสารไครโอโพรเทคแทนท์ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปรอร์เซ็นต์โดยวัดอัตราการลดอุณหภูมิ -3, -5 และ -10 องศาเซลเซียส ภายหลังการละลาย (ที่อุณหภูมิน้ำ 40, 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส)..... 42
- 13 เปรอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิปลาสวายแช่เจีงนาน 7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มี propylene glycol เป็นสารไครโอโพรเทคแทนท์ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปรอร์เซ็นต์โดยวัดอัตราการลดอุณหภูมิ -3, -5 และ -10 องศาเซลเซียส ภายหลังการละลาย (ที่อุณหภูมิน้ำ 40, 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส)... 43
- 14 เปรอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวของอสุจิปลาสวายแช่เจีงนาน 7 วัน ในน้ำยาสูตร extender 7 ที่มี sucrose เป็นสารไครโอโพรเทคแทนท์ ที่ระดับความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 เปรอร์เซ็นต์โดยวัดอัตราการลดอุณหภูมิ -3, -5 และ -10 องศาเซลเซียส ภายหลังการละลาย (ที่อุณหภูมิน้ำ 40, 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส)..... 44