

การเก็บน้ำเชื้อปลากะพงแดง (*Lutjanus argentimaculatus*) ด้วยวิธีการแช่แข็ง

สุเมธ ชมภู่วัช

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

มิถุนายน 2550

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ สุเมธ ชมภูธวัช ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิมรัตน์)

.....
(ดร.เรณู ยาชิโร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....
(รองศาสตราจารย์ ศักดิ์แพทย์หญิง ดร.นันทริกา ชันชื้อ)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิมรัตน์)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.กเชนทร์ เกลิมวัฒน์)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา

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

วันที่ 30 เดือน มิถุนายน พ.ศ.2550

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาให้คำปรึกษาและช่วยแนะนำ แก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ อย่างดีจาก รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิยมรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม และดร.เรณู ภาษีโร ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งระยอง และรองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.นันทริกา ชันชื้อ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้แนวทางในการค้นคว้าหาความรู้ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ซึ่งให้การสนับสนุนและให้คำปรึกษารวมทั้งเป็นกำลังใจในการศึกษาเสมอมา และขอขอบคุณ คุณจุฬาลักษณ์ จันทบาล และคุณศิริพร ทรัพย์รัตน์ ที่ให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวาริชศาสตร์ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือ ตลอดจนสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุเมธ ชมภูธวัช

47911118: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วาริชศาสตร์)

คำสำคัญ: น้ำยาสำหรับเจือจางน้ำเชื้อ/ สารโครีโอโพรเทคแทนท์/ อัตราการลดอุณหภูมิ

สุเมธ ชมภูรวิษ: การเก็บน้ำเชื้อปลากะพงแดง (*Lutjanus argentimaculatus*) ด้วยวิธีการแช่แข็ง (SPERM CRYOPRESERVATION OF RED SNAPPER (*Lutjanus argentimaculatus*))
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, Ph.D., สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, Ph.D., เรณู ยาชิโร, Ph.D. 78 หน้า. ปี พ.ศ.2550.

การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงแดง (*Lutjanus argentimaculatus*) ด้วยน้ำยา 10 สูตร เพื่อหาสูตรน้ำยาที่เหมาะสมในการนำมาแช่แข็งน้ำเชื้อ เมื่อนำมาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่พบว่า มีเพียงน้ำยา 3 สูตร ที่สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงแดงแบบแช่เย็นได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ Saline base, Ringer, และ Ca-F Saline ซึ่งสเปิร์มหยุดการเคลื่อนที่ที่เวลา 36, 46 และ 48 ชั่วโมง หลังการเก็บแช่เย็นตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อใช้อัตราการเจือจางน้ำเชื้อต่อสูตรน้ำยา (1: 1, 1: 2, 1: 4 และ 1: 6) ให้ผลการเก็บรักษาน้ำเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) การทดสอบความเป็นพิษของสารละลายโครีโอโพรเทคแทนท์ 10 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบว่าสารโครีโอโพรเทคแทนท์ที่มีความเป็นพิษต่ำ คือ DMSO, Methanol และ Propylene Glycol การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงแดงเมื่อใช้อัตราการลดอุณหภูมิในการแช่แข็ง 4 ระดับ (3, 5, 10 และ 12 องศาเซลเซียสต่อนาที) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) จากการศึกษาพบว่า การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงแดงด้วยน้ำยา Ringer ที่ผสมด้วย DMSO 10% และใช้อัตราการลดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ให้ผลการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงแดงดีที่สุด

47911118: MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS: EXTENDER/ CRYOPROTECTANT/ FREEZING RATE

SUMATE CHOMPHUTHAWACH: SPERM CRYOPRESERVATION OF RED SNAPPER (*Lutjanus argentimaculatus*). ADVISORY COMMITTEE: VERAPONG VUTHIPHANDCHAI, Ph.D., SUBUNTITH NIMRAT, Ph.D., RENU YASHIRO, Ph.D. 78 P. 2007.

Chilled storage of red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) sperm with 10 sperm extender was investigated to know the extender suitable for cryopreservation of sperm. Saline base, Ringer solution and calcium-free saline were the most appropriate sperm extender since there was no sperm motility at 36, 46 and 48 h after chilled storage, respectively. There was no significant difference ($p > 0.05$) in sperm motility when sperm was diluted with extender at 1: 1, 1: 2, 1: 4 or 1: 6. Toxicity studies of sperm with 10 different cryoprotectants at 5, 10, 15 and 20% showed a significant difference ($p < 0.05$) in sperm motility. Dimethyl sulfoxide (DMSO), Methanol, and Propylene glycol were the least toxic cryoprotectants. Cryopreservation of red snapper sperm at the cooling rate of 3, 5, 10 and 12 °C/min were not significantly different ($p < 0.05$). Sperm diluted with Ringer solution and equilibrated with 10% DMSO had high motility after freezing at 10 °C/min.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
สมมติฐานของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ชีววิทยาของปลากะพงแดง.....	4
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	15
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	18
อุปกรณ์.....	18
สารเคมี.....	19
วิธีดำเนินการ.....	19
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	22
การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาสูตรต่าง ๆ ที่มีต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อ	
แบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส.....	22
การทดลองที่ 2 ศึกษาอัตราส่วนการเจือจางน้ำเชื้อต่อน้ำยาที่เหมาะสมของการเก็บรักษา	
น้ำเชื้อปลากะพงแดง.....	23
การทดลองที่ 3 ศึกษาความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์ที่มีผลต่อน้ำเชื้อ...	25

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของอัตราการลดอุณหภูมิในขณะที่ทำการแช่แข็งที่มีผลต่อ การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงแดง.....	39
การทดลองที่ 5 การข้อมสีเพื่อดูอัตราการมีชีวิตรอดของสเปิร์มหลังจากการแช่แข็ง..	51
5 สรุปและอภิปรายผล.....	58
สรุปผลการทดลอง.....	58
อภิปรายผลการทดลอง.....	59
ข้อเสนอแนะ.....	63
บรรณานุกรม.....	64
ภาคผนวก.....	68
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	78

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ประเมินเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม.....	14
2 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ แบบแช่เย็นด้วยน้ำยา Ringer ที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน	24
3 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน DMSO ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	26
4 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Glycerol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	27
5 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Propylene Glycol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	29
6 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Formamide ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	30
7 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Methanol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	31
8 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Ethylene Glycol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	33
9 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Ethanol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	34
10 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Trehalose ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	35
11 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Sucrose ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	37
12 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Acetamide ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	38
13 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตรา การลดอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส.....	40
14 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตรา การลดอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส.....	42

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
15 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตรา การลดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส....	43
16 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตรา การลดอุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส....	45
17 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตรา การลดอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส.....	46
18 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตรา การลดอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส.....	48
19 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตรา การลดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส....	49
20 ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตรา การลดอุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส....	51
21 ข้อมูลการมีชีวิตรอดเฉลี่ยของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> จากการข้ามสปีดด้วย Eosin-Nigrosin ที่อัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน โดยอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส.....	52
22 ข้อมูลการมีชีวิตรอดเฉลี่ยของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> จากการข้ามสปีดด้วย Eosin-Nigrosin ที่อัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน โดยอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส.....	55
23 ค่าออสโมลาลิตีของสุตรน้ำยาต่าง ๆ	60
24 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เฉลี่ยของสเปิร์มปลากะพงแดงโดยเก็บรักษาแบบ แช่เย็นในน้ำยาสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส.....	69
25 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เฉลี่ยของสเปิร์มปลากะพงแดงโดยอัตราส่วน การเจือจางน้ำเชื้อต่อน้ำยาที่อัตราส่วนแตกต่างกัน.....	69
26 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เฉลี่ยของสเปิร์มปลากะพงแดง โดยใช้ชนิดของ สารไครโอโพรเทคแทนท์ที่ต่างชนิดกัน.....	69

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
27 เปรอร์เซ็นการเคลื่อนที่ของสเปิร์มภายหลังการแช่แข็งที่เวลา 0 นาที ในน้ำยาสูตร Ringer โดยมีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนที่ทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 เปรอร์เซ็นต์ และใช้อัตราการลดอุณหภูมิ 3, 5, 10 และ 12 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยที่อุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส.....	70
28 เปรอร์เซ็นการเคลื่อนที่ของสเปิร์มภายหลังการแช่แข็งที่เวลา 0 นาที ในน้ำยาสูตร Ringer โดยมีส่วนผสมของสารไครโอโพรเทคแทนที่ทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 เปรอร์เซ็นต์ และใช้อัตราการลดอุณหภูมิ 3, 5, 10 และ 12 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยที่อุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส.....	72
29 เปรอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของสเปิร์มภายหลังเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลวระยะเวลา 7 วัน โดยอัตราการลดอุณหภูมิ 3, 5, 10 และ 12 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส.....	74
30 เปรอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของสเปิร์มภายหลังเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลวระยะเวลา 7 วัน โดยอัตราการลดอุณหภูมิ 3, 5, 10 และ 12 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส.....	76

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะภายนอกของปลากะพงแดง	4
2 โครงสร้างและลักษณะรูปร่างของสเปิร์มปลา.....	7
3 ขั้นตอนการเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยวิธีแช่แข็ง.	9
4 ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในขณะการลดอุณหภูมิในวิธีการแช่แข็ง.....	12
5 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> ด้วยน้ำยา 3 สูตร.....	22
6 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ แบบแช่เย็นด้วยน้ำยา Ringer ที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน.....	23
7 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน DMSO ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	26
8 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Glycerol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	27
9 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Propylene Glycol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	28
10 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Formamide ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	30
11 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Methanol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	31
12 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Ethylene Glycol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	32
13 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Ethanol ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	34
14 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Trehalose ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	35
15 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Sucrose ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน.....	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
16	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> โดยเจือจางใน Acetamide ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน..... 38
17	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตราการลดอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส..... 40
18	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตราการลดอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส..... 41
19	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตราการลดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาทีและอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส..... 43
20	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตราการลดอุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียสต่อนาที และอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส..... 44
21	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตราการลดอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียสต่อนาที และอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส..... 46
22	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตราการลดอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสต่อนาที และอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส..... 47
23	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตราการลดอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส..... 49
24	เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> แบบแช่แข็งที่อัตราการลดอุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียสต่อนาที และอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส..... 50
25	อัตราการมีชีวิตรอดของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> จากการย้อมสีด้วย Eosin-Nigrosin ที่อัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน โดยอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -40 องศาเซลเซียส..... 52
26	อัตราการมีชีวิตรอดของสเปิร์ม <i>L. argentimaculatus</i> จากการย้อมสีด้วย Eosin-Nigrosin ที่อัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน โดยอุณหภูมิสุดท้ายเป็น -80 องศาเซลเซียส..... 55