การเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาว (*Crassostrea belcheri*) แบบแช่แข็ง

ศิริพร คชรัตน์

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวาริชศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา
มิถุนายน 2550
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ ศิริพร คชรัตน์ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

.....ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร เฉลิมวัฒน์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์)

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร เฉลิมวัฒน์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์)

.....กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จริตควร)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประทุม ม่วงมี)

วันที่ 15 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2550

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ ระดับบัณฑิตศึกษา
จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา
ประจำภาคปลาย ปีการศึกษา 2548

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร เฉลิมวัฒน์ และรองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ กรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ผู้วิจัยรู้สึกทราบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร อาจารย์ประจำภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จริตควร ที่กรุณารับเป็นผู้ทรงคุณวุฒิในการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ที่กรุณาตรวจแก้ไขและวิจารณ์ผลงาน ทำให้งานวิจัยมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ส่วนหนึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย จึงขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัยมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ที่ทำให้ผู้วิจัยมีวันนี้ มีวันที่สามารถก้าวเข้ามาศึกษาในร้วมหาวิทยาลัยที่ทรงคุณค่า และเป็นมหาบัณฑิตที่สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และเจ้าหน้าที่ทุก ๆ ท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการยืมวัสดุอุปกรณ์ และสารเคมีในการวิจัยครั้งนี้ รวมทั้งท่านอื่น ๆ ที่มิได้เอ่ยนามในที่นี้ ที่มีส่วนช่วยให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือ ซึ่งมีส่วนทำให้การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บูพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

ศิริพร คชรัตน์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

47911156: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วาริชศาสตร์)
คำสำคัญ: หอยตะโกรมกรามขาว/ น้ำยาบัฟเฟอร์/ สารไครโอโพรเทคแทนท์/ การแช่แข็ง/ สเปิร์ม

ศิริพร คชรัตน์: การเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาว (*Crassostrea belcheri*) แบบแช่แข็ง (CRYOPRESERVATION OF BELCHER'S OYSTER (*Crassostrea belcheri*) SPERMATOZOA) อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์: วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, Ph.D., คเชนทร เฉลิมวัฒน์, Ph.D., สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, Ph.D. 103 หน้า. ปี พ.ศ. 2550.

การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาวแบบแช่แข็ง มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการแช่แข็งน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาว ได้แบ่งการทดลองเป็น 4 ตอน คือ ตอนที่ 1 ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของหอยตะโกรมกรามขาว พบว่า น้ำเชื้อสดที่เก็บไว้ในถังน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 2-4°C สามารถเก็บได้นาน 48 ชั่วโมง มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มดีกว่าน้ำเชื้อสดที่เจือจางในน้ำทะเล สามารถเก็บรักษาได้นาน 8 ชั่วโมง เมื่อถูกกระตุ้น ตอนที่ 2 ศึกษาชนิดของน้ำยาบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาวทั้ง 4 สูตร คือ Ca-F HBSS, HBSS, ASW และ DCSB4 ที่เจือจางในอัตราส่วน 1: 2 และ 1: 4 พบว่า Ca-F HBSS ที่อัตราส่วน 1: 2 และ 1: 4 มีความเหมาะสมมากที่สุดในการแช่เย็นน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาว เนื่องจากสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นาน 72 ชั่วโมง มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเท่ากับ 86.67±6.67% ตอนที่ 3 ศึกษาความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์ทั้ง 9 ชนิด (DMSO, Methanol, Propylene Glycol, Ethylene Glycol, Glycerol, Sucrose, Ethanol, Acetamide และ Trehalose) พบว่า สารละลาย DMSO, Methanol และ Propylene Glycol มีความเป็นพิษต่อสเปิร์มน้อยที่สุด

ตอนที่ 4 การเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาวแบบแช่แข็ง โดยนำน้ำเชื้อมาเจือจางใน Ca-F HBSS และสารละลาย DMSO, Methanol และ Propylene Glycol ความเข้มข้น 5-20% นาน 10 นาที โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน (-1, -2.5, -5, -7.5, -10 และ -12.5°C/ นาที) ที่อุณหภูมิสุดท้ายต่างกัน (-30°C และ -80°C) แล้วเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว (-196°C) พบว่า สารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 5-20% ที่อัตราการลดอุณหภูมิ -1°C/ นาที จาก 25°C ถึง -80°C มีการเคลื่อนที่ดีที่สุดเท่ากับ 77.77-82.23% และอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 70°C นาน 5 วินาที มีความเหมาะสมมากที่สุดในการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาวไว้ในไนโตรเจนเหลว (-196°C) นาน 6 เดือน พบว่า สารละลาย 10% DMSO และ 15% DMSO ซึ่งมีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเท่ากับ 26.67-33.33% และจำนวนสเปิร์มที่มีชีวิตเท่ากับ 18.73-30.95% ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

47911156: MOJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS: *Crassostrea belcheri*/ EXTENDER/ CRYOPROTECTANT/ CRYOPRESERVATION/ SPERMATOZOA

SIRIPORN KOTCHARAT: CRYOPRESERVATION OF BELCHER'S OYSTER (*Crassostrea belcheri*) SPERMATOZOA. THESIS ADVISORS: VERAPONG VUTHIPHANDCHAI, Ph.D., KASHANE CHALERMWAT, Ph.D., SUBUNTITH NIMRAT, Ph.D. 103 P. 2007.

The objective of this study was to develop a protocol for cryopreservation of *Crassostrea belcheri* spermatozoa. In the first experiment, the evaluation of sperm quality showed that fresh milt could be successfully stored on ice for up to 48 hours before loss of motility, while diluted milt with sterile seawater lost motility by 8 hour after the beginning the experiment. In the second experiment, the four extenders, namely Ca-F HBSS, HBSS, ASW and DCSB4, were diluted with milt in the ratios of 1: 2 and 1: 4. The results showed that Ca-F HBSS was the most appropriate extender for chilled storage of *C. belcheri* milt since the extended milt could be preserved up to 72 hour with the highest percent of sperm motility (86.67±6.67). In the third experiment, the study was focused on the toxicity of cryoprotectants on sperm motility (DMSO, Methanol, Propylene Glycol, Ethylene Glycol, Glycerol, Sucrose, Ethanol, Acetamide and Trehalose). The results showed that DMSO, Methanol and Propylene Glycol had the lowest toxicity as compared to other cryoprotectants.

In the fourth experiment, cryopreservation of oyster milt was tested by diluting milt in Ca-F HBSS with DMSO, Methanol and Propylene Glycol at 5-20% prior to freezing in a controlled-rate freezer at freezing rate of -1, -2.5, -5, -7.5, -10 and -12.5°C/ minute reaching the final temperature -30°C and -80°C. The suitable freezing rate was -1°C/ minute by using 5-20% DMSO whereas the highest percentage of sperm motility (77.77-82.23%) was obtained. The suitable thawing rate was 70°C for 5 seconds. Cryopreserved milt prepared with 10-15% DMSO and kept in liquid nitrogen for 6 months had a percentage of sperm motility of about 26.67-33.33% and sperm viability of about 18.73-30.95%.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ญ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

สมมติฐานของการวิจัย..... 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 3

ขอบเขตของการวิจัย..... 3

นิยามศัพท์เฉพาะ..... 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน..... 5

ลักษณะทั่วไปของหอยตะโกรมกรามขาว..... 5

ชีววิทยาการสืบพันธุ์..... 7

แหล่งอาศัยและการแพร่กระจาย..... 13

การเพาะพันธุ์หอย..... 14

การแช่แข็งเซลล์..... 16

วิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อ..... 17

การเก็บรวบรวมน้ำเชื้อ..... 20

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ..... 21

น้ำยาบัฟเฟอร์..... 22

สารไครโอโพรเทคแทนท์..... 23

การลดอุณหภูมิ..... 25

การเพิ่มอุณหภูมิ..... 25

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	ชนิดและขนาดของหลอดบรรจุ	27
3	วิธีดำเนินการวิจัย	28
	สัตว์ทดลอง	28
	อุปกรณ์และสารเคมี	28
	วิธีวิจัย	30
	วิธีการทดลอง	31
	การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	34
4	ผลการวิจัย	35
	การเตรียมตัวอย่างก่อนการทดลอง	35
	การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของหอยตะโกรมกรามขาว	36
	การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาบัฟเฟอร์สูตรต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาว แบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 2-4 ^{o}C	37
	การศึกษาความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์ที่มีต่อสเปิร์มของหอยตะโกรมกรามขาว	40
	การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาวแบบแช่แข็ง	53
5	อภิปรายและสรุปผล	61
	อภิปรายผล	61
	การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของหอยตะโกรมกรามขาว	61
	การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาบัฟเฟอร์สูตรต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาว แบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 2-4 ^{o}C	62
	การศึกษาความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์ที่มีต่อสเปิร์มของหอยตะโกรมกรามขาว	65
	การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาวแบบแช่แข็ง	67
	สรุปผลการทดลอง	73
	ข้อเสนอแนะ	74

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
บรรณานุกรม	75
ภาคผนวก	83
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี	84
ประวัติย่อของผู้วิจัย	89

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4-1	ข้อมูลการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อหอยตะโกรมกรามขาวก่อนการทดลอง.....	35
4-2	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวในน้ำยาบัฟเฟอร์ สูตรต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ กันที่อัตราส่วน 1: 2.....	38
4-3	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวในน้ำยาบัฟเฟอร์ สูตรต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ กันที่อัตราส่วน 1: 4.....	39
4-4	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน DMSO ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	41
4-5	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน Methanol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	42
4-6	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน Propylene Glycol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	44
4-7	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน Ethylene Glycol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	45
4-8	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน Glycerol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	46
4-9	แสดงเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน Trehalose ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	48
4-10	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน Ethanol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	49
4-11	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน Sucrose ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	50
4-12	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวหลังจากเจือจางใน Acetamide ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	52
4-13	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว ในการแช่แข็งด้วย สารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และใช้อัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย (-80°C) ในอัตราส่วน 1: 1.....	55

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4-14 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว ที่นำมาละลายที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่าง ๆ (30°C, 50°C และ 70°C) นาน 5 วินาที ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -1°C/ นาที จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25°C จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย -80°C..... 57

ภาคผนวก ก-1 การเตรียมน้ำยาบัฟเฟอร์ทั้ง 4 สูตร..... 85

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	ลักษณะด้านในเปลือกซ้ายและด้านนอกเปลือกขวาของหอยตะโกรมกรามขาว.....	6
2-2	อวัยวะภายในของหอยนางรม.....	7
2-3	ลักษณะสเปิร์มของหอยนางรม *Crassostrea virginica* ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง ประมาณ 5 ไมโครเมตร.....	8
2-4	ลักษณะไข่ของหอยนางรม *Crassostrea virginica* ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง ประมาณ 50 ไมโครเมตร.....	8
2-5	วงจรชีวิตของหอยนางรม.....	9
2-6	ลักษณะโครงสร้างของสเปิร์มหอยนางรม *Crassostrea virginica*	11
2-7	ลักษณะส่วนหัวมีอะโครโซมรูปร่างแบบ Cap-Shaped Acrosome ของหอยนางรม *Crassostrea gigas* ถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอน (หัวลูกศรชี้บอกตำแหน่งอะโครโซม).....	12
2-8	ลักษณะไมโทคอนเดรียของหอยนางรม 2n และ 4n *Crassostrea gigas* ที่ถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอน (หัวลูกศรชี้บอกตำแหน่งไมโทคอนเดรีย)	12
2-9	การแพร่กระจายของหอยตะโกรมกรามขาว.....	14
2-10	กระบวนการ Cryopreservation.....	17
4-1	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวที่ระยะเวลาต่าง ๆ.....	36
4-2	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวในน้ำยาบัฟเฟอร์ สูตรต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ กัน ที่อัตราส่วน 1: 2.....	38
4-3	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวในน้ำยาบัฟเฟอร์ สูตรต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ กัน ที่อัตราส่วน 1: 4	39
4-4	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน DMSO ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	41
4-5	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน Methanol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	42
4-6	ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน Propylene Glycol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน.....	44

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4-7 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน Ethylene Glycol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน..... 45

4-8 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน Glycerol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน..... 46

4-9 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน Trehalose ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน..... 48

4-10 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน Ethanol ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน..... 49

4-11 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน Sucrose ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน..... 50

4-12 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว หลังจากเจือจาง ใน Acetamide ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน..... 51

4-13 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาวในการแช่แข็งด้วย สารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และใช้อัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย (-80°C) ในอัตราส่วน 1: 1..... 55

4-14 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหอยตะโกรมกรามขาว ที่นำมาละลายที่ อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างๆ (30°C, 50°C และ 70°C) นาน 5 วินาที ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -1°C/ นาที จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25°C จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย -80°C..... 57

4-15 ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มของหอยตะโกรมกรามขาว ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -1°C/ นาที จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25°C จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย -80°C แล้วนำไปเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลว (-196°C) เป็นเวลา 6 เดือน และนำมาละลายน้ำที่อุณหภูมิ 70°C นาน 5 วินาที..... 59

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4-16 ร้อยละสเปิร์มที่มีชีวิตของหอยตะโกรมกรามขาว ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -1°C/ นาที จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25°C จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย -80°C แล้วนำไปเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลว (-196°C) เป็นเวลา 6 เดือน และนำมาละลายน้ำที่อุณหภูมิ 70°C นาน 5 วินาที..... 60

5-1 ลักษณะของสเปิร์มที่แช่แข็งหลังจากการละลาย..... 71

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University