# การพัฒนาเทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*)

ผาณิต จันโอกุล

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
กรกฎาคม 2553
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ ผาณิต จันโอกุล ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

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

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(ดร. มณฑล แก่นมณี)

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

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์)

..... กรรมการ
(ดร. สวามินี ธีระวุฒิ)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษาวดี ตันติวรานุรักษ์)
วันที่ 9 เดือน กันยายน พ.ศ. 2553

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

# ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร. วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รศ.ดร. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. มณฑล แก่นมณี อาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ ตร. สวามินี ธีระวุฒิ ที่กรุณารับเป็นผู้ทรงคุณวุฒิในการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ตลอดจนตรวจแก้ไขและวิจารณ์ผลงานทำให้งานวิจัยมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ ๆ อย่างสูง ที่ให้กำลังใจ และสนับสนุนผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษาในรั้วมหาวิทยาลัยบูรพา และขอบใจ นางสาวณิฏฐา เอี่ยมละออง นางสาวอุทุมพร อุ่ยยก และเพื่อน ๆ ทุกคนที่มีส่วนช่วยในการทำวิจัยในครั้งนี้

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่ บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้ามีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

ผาณิต จันโอกุล

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

50910439: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม; วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)
คำสำคัญ: ปลายี่สกเทศ/ น้ำยาบัฟเฟอร์/ สารไครโอโพรเทคแทนท์/ การแช่แข็ง/ สเปิร์ม

ผาณิต จันโอกุล: การพัฒนาเทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) (DEVELOPMENT OF CRYOPRESERVATION TECHNIQUE FOR ROHU (*Labeo rohita*) SPERM) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, Ph.D., สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, Ph.D. 74 หน้า. ปี พ.ศ. 2553.

การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศแบบแช่แข็ง มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศ ได้แบ่งการทดลองเป็น 4 ตอน คือ ตอนที่ 1 การศึกษาระดับการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในสารละลาย NaCl, KCl, $CaCl_2$, glucose และ mannital ที่ความเข้มข้น 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 และ 300 mM ในทุกสารละลาย พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่สูง (100%) ในสารสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำ (0, 25 และ 50 mM) เมื่อสารละลายมีความเข้มข้นสูงสเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ลดลง ตอนที่ 2 ทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศแบบแช่แข็ง โดยนำน้ำเชื้อมาเจือจางสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 หรือCa-F HBSS และสารไครโอโพรเทคแทนท์ 6 ชนิด ได้แก่ dimethyl Sulfoxide (DMSO), methanol, glycerol, ethanol, propylene glycol และ ethylene glycol ความเข้มข้นสุดท้าย 5%,10%,15% และ 20% ที่อัตราการลดอุณหภูมิ 3ระดับ (-3, -5 และ -10°C/min) พบว่า สารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 หรือ Ca-F HBSS ผสม 15% DMSO ที่อัตราการลดอุณหภูมิ -10°C/min มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มไม่แตกต่างกันอยู่ระหว่าง 84.44±2.2 และ 78.90±1.1 ตามลำดับ ตอนที่ 3 ศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศ แบบแช่แข็ง โดยนำน้ำเชื้อมาเจือจางสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 หรือ Ca-F HBSS ผสม 15% DMSO พบว่า การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศแบบแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 หรือ Ca-F HBSS เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศไว้ 8 เดือน หลังการละลายสเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ และเปอร์เซ็นต์สเปิร์มมีชีวิต ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์สเปิร์มมีชีวิดที่อยู่ระหว่าง 75.55±2.2 -80±0.0 และ 81.11±1.17-95.22±0.79 ตามลำดับ และตอน ที่ 4 ศึกษาผลของการพัฒนาเทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศโดยการแช่แข็งในกล่องโฟม โดยเจือจางน้ำเชื้อกับสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 หรือ Ca-F HBSS ผสม 15% DMSO วางสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนในระดับที่ต่าง ๆ กัน และเวลาต่าง ๆ กัน พบว่า สารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS ที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจน 2 เซนติเมตร มีมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มและเปิร์มมีชีวิตสูงที่สุด (60.00±2.2 -80.00±2.2 และ 75.22±2.2 -86.11±2.2)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

50910439: MAJOR: ENVIRONMENTAL SCIENCE; M.Sc. (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

KEYWORDS: *Labeo rohita*/ EXTENDER/ CRYOPROTECTANT/ CRYOPRESERVATION/ SPERMATOZOA

PHANIT JANOKUN: DEVELOPMENT OF CRYOPRESERVATION TECHNIQUE FOR ROHU (*Labeo rohita*) SPERM. ADVISORY COMMITTEE : VERAPONG VUTHIPHANDCHAI, Ph.D., SUBUNTITH NIMRAT, Ph.D. 74 P. 2010.

The objective of this study was to develop the protocol for cryopreservation of rohu *(Labeo rohita)* sperm. In the first experiment, study was evaluated the effect of osmolality on sperm motility of rohu. Pooled sperm samples were activated with NaCl, KCl, $CaCl_2$, glucose and Mannital at 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 and 300 mM. Highest percentage of sperm motility (100%) was observed in all tested solutions at low concentration (0, 25 and 50 mM) while an increase in solute concentration resulted in lower motility. In the second experiment, milt was equilibrated with extender 7 or Ca-F HBSS with six cryoprotectant solutions (DMSO, methanol, glycerol, ethanol, propylene glycol and ethylene glycol) at final concentrations of 5%,10%,15% and 20% before freezing using threet freezing rates (-3, -5 and -10°C/min). Highest sperm motility was obtained from treatments with extender 7 or Ca-F HBSS diluted with 15% DMSO using a freezing rate at 10°C/min showing similar values of 84.44±2.2 and 78.90±1.1, respectively. In the third experiment, cryopreserved milt prepared with Extender 7 or Ca-F HBSS using 15% DMSO and -10°C/min was kept in liquid nitrogen to evaluate the effect of storage period on the quality of post-thaw. Percentage of sperm motility and percentage of sperm viability were not significantly different ($P < 0.05$) between treatments showing values of about 75.55±2.2 -80±0.0 and 81.11±1.17-95.22±0.79, respectively after storage for 8 months. In the fourth experiment, development of sperm cryopreservation technique for rohu sperm was performed by diluting sperm with Extender 7 or Ca-F HBSS and 15% DMSO before freezing in the vapor face of liquid nitrogen different heights and exposure time. Results showed that sperm diluted with Ca-F HBSS above the surface of liquid nitrogen 2 cm had in the highest percentage of sperm motility and percentage of sperm viability (60.00±2.2 -80.00±2.2 and 75.22±2.2 - 86.11±2.2).

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

# สารบัญ


หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ซ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

สมมุติฐานของการวิจัย..... 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 3

ขอบเขตของการวิจัย..... 3

ข้อจำกัดของการวิจัย..... 4

นิยามศัพท์เฉพาะ..... 4

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

ชีววิทยาและอนุกรมวิธานของปลายี่สกเทศ..... 5

อวัยวะสืบพันธุ์และการสร้างเซลล์อสุจิ..... 6

ตัวอสุจิ (Fish spermatozoa)..... 7

ของเหลวในน้ำเชื้อปลา..... 8

การเก็บรวบรวมและการเก็บรักษาน้ำเชื้อ..... 8

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ..... 15

3 วิธีการดำเนินการ 16

อุปกรณ์และสารเคมี..... 16

วิธีดำเนินการ..... 18

วิธีการทดลอง..... 20

การประเมินการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่เทศ..... 23


มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

# สารบัญ (ต่อ)


| บทที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| | การละลาย | 23 |
| | การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติ | 23 |
| 4. | ผลการวิจัย | 24 |
| | ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของปลายี่สกเทศ | 24 |
| | ศึกษาระดับการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในสารละลายกลุ่มมีประจุ และสารละลายกลุ่มไม่มีประจุ ที่มีระดับความเข้มข้นของสารละลายที่แตกต่างกัน | 24 |
| | ศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศแบบแช่แข็ง | 27 |
| | ศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศแบบแช่แข็ง | 42 |
| | ศึกษาการพัฒนาเทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศโดยการแช่แข็งในกล่องโฟม | 46 |
| 5. | อภิปรายและสรุป | 52 |
| | อภิปราย | 52 |
| | ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของปลายี่สกเทศ | 52 |
| | การศึกษาระดับการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในน้ำยาสูตรมีประจุและในน้ำยาสูตรไม่มีประจุ ที่มีที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน | 53 |
| | การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศแบบแช่แข็ง | 55 |
| | ศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลายี่สกเทศแบบแช่แข็ง | 58 |
| | ศึกษาการพัฒนาเทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศโดยการแช่แข็งในกล่องโฟม | 60 |
| | สรุปผลการทดลอง | 61 |
| | ข้อเสนอแนะ | 61 |
| | บรรณานุกรม | 62 |
| | ภาคผนวก | 67 |
| | ประวัติย่อของผู้วิจัย | 74 |


มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

# สารบัญตาราง


ตารางที่ หน้า

4-1 ระดับออสโมลาริตีในสารละลายกลุ่มมีประจุและไม่มีประจุ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 25

4-2 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศ ในสารละลายกลุ่มมีประจุ และไม่มีประจุ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 26

4-3 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 เจือจางสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 29

4-4 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 เจือจางสารละลาย Propylene Glycol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 29

4-5 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 เจือจางสารละลาย Ethylene Glycol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 30

4-6 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 เจือจางสารละลาย Methanol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 30

4-7 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 เจือจางสารละลาย Ethanol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 31

4-8 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS เจือจางสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 33

4-9 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS เจือจางสารละลาย Propylene Glycol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 33

4-10 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS เจือจางสารละลาย Ethylene Glycol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 34

4-11 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS เจือจางสารละลาย Methanol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 35

4-12 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS เจือจางสารละลาย Ethanol ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน..... 36

4-13 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 เจือจางสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20%..... 38


มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

# สารบัญตาราง (ต่อ)


ตารางที่ หน้า

4-14 เปอร์เซ็นต์ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 เจือจางสารละลาย Ethanol ที่ความเข้มข้น 10%, 15% และ 20%..... 38

4-15 เปอร์เซ็นต์ร้อยละการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 เจือจางสารละลาย Methanol ที่ความเข้มข้น 10%, 15% และ 20%..... 39

4-16 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS เจือจางสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20%..... 40

4-17 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS เจือจางสารละลาย Ethanol ที่ความเข้มข้น 10%, 15% และ 20%..... 41

4-18 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS เจือจางสารละลาย Methanol ที่ความเข้มข้น 10%, 15% และ 20%..... 41

4-19 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลายี่สกเทศในการแช่แข็งด้วยสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน โดยเปรียบเทียบระหว่างสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 และ Ca-F HBSS..... 42

4-20 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของปลายี่สกเทศ ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง 15% โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -10°C/min จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25°C จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย -40°C แล้วนำไปเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 9 เดือน นำมาละลายน้ำอุณหภูมิ 70°C นาน 5 วินาที..... 44

4-21 เปอร์เซ็นต์สเปิร์มที่มีชีวิตของปลายี่สกเทศ ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง 15% โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิ -10°C/min จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25°C จนถึงอุณหภูมิสุดท้าย -40°C แล้วนำไปเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 9 เดือน นำมาละลายน้ำอุณหภูมิ 70°C นาน 5 วินาที..... 45


มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

# สารบัญตาราง (ต่อ)


ตารางที่ หน้า

4-22 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่สเปิร์มของปลายี่สกเทศ ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 โดยใช้เทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศในกล่องโฟม ที่สูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนระดับต่าง ๆ กัน และอัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน..... 48

4-23 เปอร์เซ็นต์สเปิร์มที่มีชีวิตของปลายี่สกเทศ ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 โดยใช้เทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศในกล่องโฟม ที่สูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลวระดับต่าง ๆ กัน และอัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ..... 48

4-24 เปอร์เซ็นต์สเปิร์มที่มีชีวิตของปลายี่สกเทศ ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 โดยใช้เทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศในกล่องโฟม ที่สูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลวระดับต่าง ๆ กัน และอัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ..... 49

4-25 เปอร์เซ็นต์สเปิร์มที่มีชีวิตของปลายี่สกเทศ ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Ca-F HBSS โดยใช้เทคนิคการแช่แข็งน้ำเชื้อปลายี่สกเทศในกล่องโฟมที่สูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลวระดับต่าง ๆ กัน และอัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ กัน ..... 49

4-26 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่สเปิร์มของปลายี่สกเทศ ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 และ Ca-F HBSSที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว 2 เซนติเมตร และอัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ..... 51

4-27 เปอร์เซ็นต์สเปิร์มมีชีวิตของปลายี่สกเทศ ภายหลังการแช่แข็งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Extender 7 และ Ca-F HBSS ที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว 2 เซนติเมตร และอัตราการลดอุณหภูมิต่าง ๆ..... 51

ภาคผนวก การชั่งสารละลายกลุ่มมีประจุ NaCl, KCl และ $CaCl_2.2H_2O$ และกลุ่มไม่มีประจุ คือ Glucose และ Mannital ที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 100, 125, 150, 200, 225, 250, 255, 275 และ 300 mM ละลายน้ำ deionized water 10 ml..... 68


มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University