

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 ตอน คือ

1. คุณภาพสเปิร์มของน้ำเชื้อปลากะพงขาว
2. การทดสอบความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์
3. การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวด้วยเครื่องมือลดอุณหภูมิอัตโนมัติ
4. การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวอย่างง่ายในถังโฟม
5. การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวในปริมาณต่าง ๆ กัน
6. การทดสอบความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาวแช่แข็ง

1. คุณภาพสเปิร์มของน้ำเชื้อปลากะพงขาว

พ่อพันธุ์ปลากะพงขาวที่รวบรวมมาแล้วนำมาพักที่โรงเพาะฟักและประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปรากฏว่า พ่อพันธุ์ที่รวบรวมมาในช่วงต้นฤดูผสมพันธุ์วางไข่ (มีนาคม - เมษายน) มีความหนาแน่นสเปิร์มเฉลี่ย $(3.6 \pm 0.4) \times 10^{10}$ /มิลลิลิตร และมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในช่วงกลางฤดูผสมพันธุ์วางไข่ (พฤษภาคม - กรกฎาคม) เท่ากับ $(8.7 \pm 0.9) \times 10^{10}$ /มิลลิลิตร และมีค่าลดลงในช่วงปลายฤดูผสมพันธุ์วางไข่ (กันยายน - ตุลาคม) อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสเปิร์มมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างฤดูกาลผสมพันธุ์วางไข่ โดยมีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเฉลี่ยระหว่าง 93.3-100% และมีสเปิร์มที่มีชีวิตสูงกว่า 96% พ่อพันธุ์บางส่วนที่ผ่าตัดเอาถุงน้ำเชื้อ (testis) ออกมาพบว่ามีค่า gonadosomatic index เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.4-0.9%

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพสเปิร์มปลากะพงขาวในช่วงฤดูผสมพันธุ์วางไข่ พ.ศ. 2551-2552

ช่วงฤดูผสมพันธุ์ วางไข่	คุณภาพน้ำเชื้อ		
	Sperm density ($\times 10^{10}$ /mL)	Sperm motility (%)	Sperm viability (%)
ต้นฤดู (N=8)	3.6 ± 0.4^a	93.3 ± 6.7^a	97.1 ± 1.5^a
กลางฤดู (N=10)	8.7 ± 0.9^b	100 ± 0^a	98.6 ± 0.9^a
ปลายฤดู (N=7)	4.5 ± 1.1^a	93.3 ± 6.7^a	96.6 ± 1.8^a

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวดังแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

2. การทดสอบความเป็นพิษของสารโครีโอโพรเทคแทนท์

2.1 การทดสอบความเป็นพิษของ Acetamide

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด (freshly collected milt) พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มเท่ากับ 100% ผลการทดสอบการเคลื่อนที่ของสเปิร์มที่แช่ใน Acetamide 5% หยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 60 นาที Acetamide ที่ความเข้มข้น 10% หยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 45 นาที Acetamide ที่ความเข้มข้น 15% หยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที และ Acetamide ที่ความเข้มข้น 20% หยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที (ตารางที่ 2)

จากการทดลองทางสถิติพบว่าความเข้มข้นของสารละลาย Acetamide 5% มีความแตกต่างกันทางสถิติกับสารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 10%, 15% และ 20% ($P < 0.05$) เวลาที่ใช้ในการทดสอบน้ำเชื้อปลากะพงขาวกับสารละลาย Acetamide ที่เวลา 0, 15, 30 และ 45 นาที มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ที่เวลา 60, 90, 120, 150 และ 180 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

2.2 การทดสอบความเป็นพิษของ Propylene glycol

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 100% ก่อนการทำการทดสอบ การทดสอบการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อที่แช่ในสารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% ยังมีการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 180 นาที (ตารางที่ 3)

จากการทดสอบทางสถิติพบว่าความเข้มข้นของสารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 5% และ สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 10% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แต่สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 15% และ สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 20% มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Acetamide

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
น้ำเชื้อสด	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}
0	80.00 ±0.00 ^{a,2}	80.00±0.00 ^{a,2}	60.00±0.00 ^{b,2}	60.00±0.00 ^{b,2}
15	20.00±0.00 ^{a,3}	20.00±0.00 ^{a,3}	10.00±0.00 ^{b,3}	10.00±0.00 ^{b,3}
30	13.33±3.33 ^{a,3}	10.00±0.00 ^{b,3}	0.00	0.00
45	13.33±3.33 ^{a,3}	0.00	0.00	0.00
60	0.00	0.00	0.00	0.00
90	0.00	0.00	0.00	0.00
120	0.00	0.00	0.00	0.00
150	0.00	0.00	0.00	0.00
180	0.00	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Propylene glycol

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
น้ำเชื้อสด	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}
0	100.00±0.00 ^{a,1}	93.33±6.67 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}
15	93.33±6.67 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	86.67±6.67 ^{b,1}	73.33±6.67 ^{c,1}
30	93.33±6.67 ^{a,1}	93.33±6.67 ^{a,1}	86.67±6.67 ^{b,1}	60.00±0.00 ^{c,2}
45	93.33±6.67 ^{a,1}	93.33±6.67 ^{a,1}	86.67±6.67 ^{b,1}	46.67±6.67 ^{c,3}
60	93.33±6.67 ^{a,1}	93.33±6.67 ^{a,1}	86.67±6.67 ^{b,1}	46.67±6.67 ^{c,3}
90	93.33±6.67 ^{a,1}	86.67±6.67 ^{a,2}	80.00±0.00 ^{b,2}	20.00±0.00 ^{c,4}
120	86.67±6.67 ^{a,2}	93.33±6.67 ^{a,1}	80.00±0.00 ^{b,2}	13.33±3.33 ^{c,4}
150	86.67±6.67 ^{a,2}	86.67±6.67 ^{a,2}	60.00±0.00 ^{b,3}	0.00
180	86.67±6.67 ^{a,2}	86.67±6.67 ^{a,2}	60.00±0.00 ^{b,3}	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

2.3 การทดสอบความเป็นพิษของ Ethylene glycol

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 100% ก่อนทำการทดสอบ การทดสอบการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อที่แช่ในสารละลาย Ethylene glycol ที่ความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% พบว่า หุตุการเคลื่อนที่เมื่อเวลา 0 นาที (ตารางที่ 4)

จากการทดลองทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Ethylene glycol ที่ความเข้มข้น 5% 10% 15% และ 20% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) เวลาที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

2.4 การทดสอบความเป็นพิษของ Glycerol

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 100% ก่อนการทดสอบ การทดสอบการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อที่แช่ในสารละลาย Glycerol ที่ความเข้มข้น 5% และ สารละลาย Glycerol ที่ความเข้มข้น 10% พบว่า สเปิร์มหุตุการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที และ สารละลาย Glycerol ที่ความเข้มข้น 15% และ สารละลาย Glycerol ที่ความเข้มข้น 20% พบว่า หุตุการเคลื่อนที่เมื่อเวลาที่ 0 นาที (ตารางที่ 5)

จากการทดลองทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Glycerol ที่ความเข้มข้น 5% และ สารละลาย Glycerol ที่ความเข้มข้น 10% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่สารละลาย Glycerol ที่ความเข้มข้น 15% และ 20% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เวลาที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวกับสารละลายที่เวลา 0 นาที มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที ($P<0.05$)

2.5 การทดสอบความเป็นพิษของ Formamide

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสดพบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 100% ก่อนการทดสอบ ผลของการทดสอบการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อที่แช่ในสารละลาย Formamide ที่ความเข้มข้น 5% พบว่า หุตุการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที, Formamide ที่ความเข้มข้น 10% พบว่า หุตุการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที Formamide ที่ความเข้มข้น 15% และ 20% พบว่า หุตุการเคลื่อนที่เมื่อเวลาที่ 0 นาที (ตารางที่ 6)

จากการทดลองทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Formamide ที่ความเข้มข้น 5% และ สารละลาย Formamide ที่ความเข้มข้น 10% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับสารละลาย Formamide ที่ความเข้มข้น 15% และ สารละลาย Formamide ที่ความเข้มข้น 20% ($P>0.05$) เวลาที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวกับสารละลาย Formamide ที่เวลา 0 นาที มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กับ เวลาที่ 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที ($P<0.05$)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Ethylene glycol

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
น้ำเชื้อสด	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}
0	0.00	0.00	0.00	0.00
15	0.00	0.00	0.00	0.00
30	0.00	0.00	0.00	0.00
45	0.00	0.00	0.00	0.00
60	0.00	0.00	0.00	0.00
90	0.00	0.00	0.00	0.00
120	0.00	0.00	0.00	0.00
150	0.00	0.00	0.00	0.00
180	0.00	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Glycerol

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
น้ำเชื้อสด	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}
0	86.67±6.67 ^{a,2}	86.67±6.67 ^{a,2}	0.00	0.00
15	0.00	0.00	0.00	0.00
30	0.00	0.00	0.00	0.00
45	0.00	0.00	0.00	0.00
60	0.00	0.00	0.00	0.00
90	0.00	0.00	0.00	0.00
120	0.00	0.00	0.00	0.00
150	0.00	0.00	0.00	0.00
180	0.00	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

2.6 การทดสอบความเป็นพิษของ DMSO

การประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 100% และการทดสอบการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อที่ผสมในสารละลาย DMSO พบว่าที่ความเข้มข้น 10% สเปิร์มยังมีการเคลื่อนที่อยู่เมื่อเวลาผ่านไป 180 นาที แต่ที่ความเข้มข้น 5% จะหยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลา 150 นาที ส่วนความเข้มข้น 15% น้ำเชื้อหยุดเคลื่อนที่เมื่อเวลา 60 นาที และที่ความเข้มข้น 20% เมื่อเวลา 45 นาทีน้ำเชื้อหยุดการเคลื่อนที่ (ตารางที่ 7)

จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย DMSO 5%, 10%, 15% และ 20% มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาวกับสารละลาย DMSO ที่ 0 นาที มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที ($P < 0.05$) แต่เวลาที่ 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

2.7 การทดสอบความเป็นพิษของ Ethanol

การประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่ามี สเปิร์มเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 100% และการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อที่ผสมในสารละลาย Ethanol พบว่าที่ความเข้มข้น 5% สเปิร์มจะหยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลา 150 นาที ส่วนความเข้มข้น 10% และ 15% สเปิร์มหยุดเคลื่อนที่เมื่อเวลา 90 นาที และที่ความเข้มข้น 20% เมื่อเวลา 30 นาที สเปิร์มหยุดการเคลื่อนที่ (ตารางที่ 8)

จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Ethanol 5%, 10%, 15% และ 20% มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาวกับสารละลาย Ethanol ที่ 0 นาที 15, 30, 45 และ 60 นาที มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ที่ 90, 120, 150 และ 180 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

2.8 การทดสอบความเป็นพิษของ Sucrose

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 100% และการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อที่ผสมในสารละลาย Sucrose พบว่าที่ความเข้มข้น 5% สเปิร์มจะหยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที ส่วนความเข้มข้น 10% 15% และ 20% สเปิร์มหยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที (ตารางที่ 9)

จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Sucrose 5% มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับ Sucrose 10%, 15% และ 20% ($P < 0.05$) เวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาวกับสารละลาย Sucrose ที่ 0 นาที มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที ($P < 0.05$)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Formamide

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
นำเชื้อสด	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}	100.00±0.00 ^{a,1}
0	86.67±6.67 ^{a,2}	86.67±6.67 ^{a,2}	0.00	0.00
15	5.00±0.00 ^{a,3}	0.00	0.00	0.00
30	0.00	0.00	0.00	0.00
45	0.00	0.00	0.00	0.00
60	0.00	0.00	0.00	0.00
90	0.00	0.00	0.00	0.00
120	0.00	0.00	0.00	0.00
150	0.00	0.00	0.00	0.00
180	0.00	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย DMSO

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
0	73.33 ± 6.67 ^{b,1}	100 ± 0.00 ^{a,1}	80 ± 0.00 ^{a,1}	60 ± 0.00 ^{c,1}
15	73.33 ± 6.67 ^{b,1}	93.33 ± 6.67 ^{a,1}	40 ± 0.00 ^{c,2}	40 ± 0.00 ^{c,2}
30	60.00 ± 0.00 ^{b,2}	93.33 ± 6.67 ^{a,1}	20 ± 0.00 ^{c,3}	10 ± 0.00 ^{c,3}
45	46.67 ± 6.67 ^{b,3}	86.67 ± 6.67 ^{a,2}	10 ± 0.00 ^{c,3}	0.00
60	40.00 ± 0.00 ^{b,3}	86.67 ± 6.67 ^{a,2}	0.00	0.00
90	40.00 ± 0.00 ^{b,3}	86.67 ± 6.67 ^{a,2}	0.00	0.00
120	26.67 ± 6.67 ^{b,4}	86.67 ± 6.67 ^{a,2}	0.00	0.00
150	0.00	86.67 ± 6.67 ^{a,2}	0.00	0.00
180	0.00	80 ± 0.00 ^{a,2}	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 8 เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Ethanol

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น %			
	5	10	15	20
0	80.00 ± 0.00 ^{a,1}	73.33 ± 6.67 ^{a,1}	60.00 ± 0.00 ^{b,1}	60.00 ± 0.00 ^{b,1}
15	66.67 ± 6.67 ^{a,2}	60.00 ± 0.00 ^{a,1}	40.00 ± 0.00 ^{b,2}	26.67 ± 6.67 ^{c,2}
30	40.00 ± 0.00 ^{a,3}	46.67 ± 6.67 ^{a,2}	33.33 ± 6.67 ^{b,2}	0.00
45	26.67 ± 6.67 ^{a,4}	26.67 ± 6.67 ^{a,3}	20.00 ± 0.00 ^{b,3}	0.00
60	16.67 ± 3.33 ^{a,5}	16.67 ± 3.33 ^{a,4}	16.67 ± 6.67 ^{a,3}	0.00
90	16.67 ± 3.33 ^{a,5}	0.00	0.00	0.00
120	13.33 ± 3.33 ^{a,5}	0.00	0.00	0.00
150	0.00	0.00	0.00	0.00
180	0.00	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 8 เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Sucrose

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น %			
	5	10	15	20
0	80.00 ± 0.00 ^{a,1}	10.00 ± 0.00 ^b	10.00 ± 0.00 ^b	10.00 ± 0.00 ^b
15	53.33 ± 6.67 ^{a,2}	0.00	0.00	0.00
30	0.00	0.00	0.00	0.00
45	0.00	0.00	0.00	0.00
60	0.00	0.00	0.00	0.00
90	0.00	0.00	0.00	0.00
120	0.00	0.00	0.00	0.00
150	0.00	0.00	0.00	0.00
180	0.00	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

2.9 การทดสอบความเป็นพิษของ Trehalose

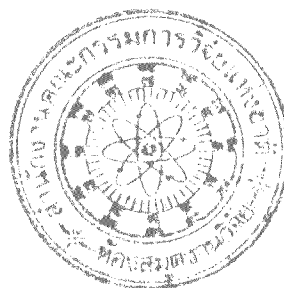
จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 100% และการเคลื่อนที่ของสเปิร์มที่ผสมในสารละลาย Trehalose พบว่าที่ความเข้มข้น 5% สเปิร์มจะหยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที ส่วนความเข้มข้น 10% และ 15% สเปิร์มหยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที และที่ความเข้มข้น 20% สเปิร์มหยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลา 0 นาที (ตารางที่ 10)

จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Trehalose 5% มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับ Trehalose 10%, 15% และ 20% ($P < 0.05$) แต่ Trehalose 10% และ 15% ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาวกับสารละลาย Trehalose ที่ 0 นาที มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที ($P < 0.05$)

2.10 การทดสอบความเป็นพิษของ Methanol

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 100% และการเคลื่อนที่ของสเปิร์มที่ผสมในสารละลาย Methanol พบว่า ที่ความเข้มข้น 5% และ 10% เมื่อเวลาผ่านไป 180 นาที สเปิร์มยังมีการเคลื่อนที่อยู่ ส่วนความเข้มข้น 15% สเปิร์มหยุดการเคลื่อนที่เมื่อเวลาผ่านไป 90 นาที และที่ความเข้มข้น 20% เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที สเปิร์มหยุดการเคลื่อนที่ (ตารางที่ 11)

จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Methanol 5%, 10%, 15% และ 20% มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลากะพงขาวกับสารละลาย Methanol ที่ 0, 15, 30, 45 และ 60 มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และที่ 90 120 150 และ 180 นาที ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)



ตารางที่ 10 เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Trehalose

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น %			
	5	10	15	20
0	$80.00 \pm 0.00^{a,1}$	20.00 ± 0.00^b	20.00 ± 6.67^b	0.00
15	$26.67 \pm 6.67^{a,2}$	0.00	0.00	0.00
30	0.00	0.00	0.00	0.00
45	0.00	0.00	0.00	0.00
60	0.00	0.00	0.00	0.00
90	0.00	0.00	0.00	0.00
120	0.00	0.00	0.00	0.00
150	0.00	0.00	0.00	0.00
180	0.00	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 11 เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวในสารละลาย Methanol

เวลา (นาที)	ความเข้มข้น %			
	5	10	15	20
0	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	100.00 ± 0.00^a
15	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$80.00 \pm 0.00^{b,2}$	0.00
30	$100.00 \pm 0.00^{a,1}$	$86.67 \pm 6.67^{b,2}$	$73.33 \pm 6.67^{b,2}$	0.00
45	$93.33 \pm 6.67^{a,1}$	$80.00 \pm 0.00^{b,2}$	$60.00 \pm 0.00^{c,3}$	0.00
60	$80.00 \pm 0.00^{a,2}$	$80.00 \pm 0.00^{a,2}$	$33.33 \pm 6.67^{b,4}$	0.00
90	$80.00 \pm 0.00^{a,2}$	$80.00 \pm 0.00^{a,2}$	0.00	0.00
120	$80.00 \pm 0.00^{a,2}$	$73.33 \pm 6.67^{a,3}$	0.00	0.00
150	$80.00 \pm 0.00^{a,2}$	$66.67 \pm 6.67^{b,3}$	0.00	0.00
180	$80.00 \pm 0.00^{a,2}$	$60.00 \pm 0.00^{b,3}$	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

3. การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวด้วยเครื่องมือลดอุณหภูมิอัตโนมัติ

3.1 การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวด้วย Propylene glycol

การทดสอบการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เก็บแช่แข็งทำโดยเจือจางน้ำเชื้อในน้ำยาสูตร Ca-F HBSS และ สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 5%, 10%, 15% และ 20% ในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิ อย่างรวดเร็ว ($10^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$) อัตราการลดอุณหภูมิต่างปานกลาง ($5^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$) และ อัตราการลดอุณหภูมิต่ำ ($3^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$) จากอุณหภูมิเริ่มต้น 25°C จนถึงอุณหภูมิต่ำสุดที่ -40°C ในเครื่องลดอุณหภูมิแล้วนำไปเก็บในไนโตรเจนเหลว 3 วันแล้วนำมาละลาย โดยการแช่แข็งทั้งในช่วงต้น ช่วงกลาง และปลายฤดูผสมพันธุ์วางไข่

การประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่า สเปิร์มในช่วงต่างๆของฤดูกาลมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 100% เมื่อรวบรวมมาใหม่ๆ การทดสอบการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่แช่แข็งในสารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 5% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $3^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 80% สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 10% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $3^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่าสเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 80% สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 15% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $3^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่ามีสเปิร์มเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 53.33% และ สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 20% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $3^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่าไม่มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวหลังการละลาย (thawing) (ตารางที่ 12)

การใช้สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 5% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $5^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่าสเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 60% สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 10% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $5^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่ามีสเปิร์มเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 10% สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 15% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $5^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 10% และ สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 20% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $5^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่าไม่มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาว (ตารางที่ 12)

สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 5% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $10^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 20% สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 10% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $10^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่าสเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 10% สารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 15% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $10^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่าสเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 5.00% และสารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 20% ในอัตราการลดอุณหภูมิ $10^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ พบว่าไม่มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวหลังการละลาย (ตารางที่ 12)

จากการทดลองทางสถิติ พบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Propylene glycol ที่ความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) อัตราการลดอุณหภูมิ 3, 5 และ $10^{\circ}\text{C}/\text{นาที่}$ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวที่แช่แข็งใน Propylene glycol

อัตราการลดอุณหภูมิ (°C/นาท)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
3	80.00±0.00 ^{a,1}	80.00±0.00 ^{a,1}	53.33±6.67 ^{b,1}	0.00
5	60.00±0.00 ^{a,2}	10.00±0.00 ^{b,2}	10.00±0.00 ^{b,2}	0.00
10	20.00±0.00 ^{a,3}	10.00±0.00 ^{b,2}	5.00±0.00 ^{c,2}	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

3.2 การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวด้วย Acetamide

การประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสดในช่วงต่างๆของฤดูผสมพันธุ์วางไข่ พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 100% การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวในน้ำยาสูตร Ca-F HBSS และ สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 5% ในอัตราการลดอุณหภูมิ 3°C/นาท พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 40% สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 10% ในอัตราการลดอุณหภูมิ 3°C/นาท พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 20% สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 15% และ สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 20% ในอัตราการลดอุณหภูมิ 3°C/นาท พบว่า ไม่มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาว (ตารางที่ 13)

สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 5% ในอัตราการลดอุณหภูมิ 5°C/นาท พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 10% สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 10% ในอัตราการลดอุณหภูมิ 5°C/นาท พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 8.33% สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 15% และสารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 20% ในอัตราการลดอุณหภูมิ 5°C/นาท พบว่า ไม่มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาว (ตารางที่ 13)

จากการทดลองทางสถิติ พบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 5% และ สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 10% พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ที่ความเข้มข้นของสารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 15% และ สารละลาย Acetamide ที่ความเข้มข้น 20% พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) อัตราการลดอุณหภูมิที่ 3°C/นาท 5°C/นาท และ 10°C/นาท มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวที่แช่แข็งใน Acetamide

อัตราการลดอุณหภูมิ (°C/นาท)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
3	40.00±0.00 ^{a,1}	20.00±0.00 ^{b,1}	0.00	0.00
5	10.00±0.00 ^{a,2}	8.33±1.67 ^{a,2}	0.00	0.00
10	0.00	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวเลขที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

3.3 การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวด้วย DMSO

จากการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสดในช่วงต่างๆของฤดูผสมพันธุ์วางไข่ พบว่าน้ำเชื้อสดมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มเท่ากับ 100% ก่อนทำการแช่แข็ง น้ำเชื้อปลากะพงขาวมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่หลังการละลาย (post-thaw sperm motility) มีค่าดีที่สุด (80%) เมื่อนำน้ำเชื้อมาเจือจางในสารละลาย 10% DMSO แล้วลดอุณหภูมิในอัตรา 10 °C/นาท หรือเมื่อนำน้ำเชื้อมาเจือจางในสารละลาย 5% DMSO หรือ 15% DMSO แล้วลดอุณหภูมิในอัตรา 5 °C/นาท (ตารางที่ 14)

จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย DMSO 5%, 10%, 15% และ 20% มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และอัตราการลดอุณหภูมิที่ 3, 5 และ 10 °C/นาท มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวที่แช่แข็งใน DMSO

อัตราการลดอุณหภูมิ (°C/นาท)	ความเข้มข้น (%)			
	5	10	15	20
3	5.2 ± 1.1 ^{b,3}	11.7 ± 3.2 ^{b,2}	53.3 ± 6.7 ^{a,2}	0
5	80 ± 3.9 ^{a,1}	5.2 ± 2.1 ^{b,2}	80 ± 1.7 ^{a,1}	0
10	26.7 ± 2.2 ^{b,2}	80.4 ± 2.9 ^{a,1}	5.1 ± 2.9 ^{c,3}	6.7 ± 01.3 ^c

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

3.4 การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวด้วย methanol และ ethanol

การประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสดในช่วงต่างๆของฤดูผสมพันธุ์วางไข่ พบว่า สเปิร์มมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 100% ก่อนทำการแช่แข็ง อย่างไรก็ตามน้ำเชื้อปลากะพงขาวมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหลังการละลายเมื่อใช้ methanol และ ethanol เป็นสารไครโอโพรเทคแทนท์ในทุกชุดการทดลองมีค่าน้อยกว่า 5% หรือไม่มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มเลยเมื่อกระตุ้นด้วยน้ำทะเล

3.5 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารไครโอโพรเทคแทนท์ (Propylene glycol, acetamide และ DMSO) ในการแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาว

การประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสด พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 80% ก่อนทำการแช่แข็ง ผลการทดสอบการเคลื่อนที่ของสเปิร์มหลังการแช่แข็งด้วยการใช้อัตราการลดอุณหภูมิ ($-10^{\circ}\text{C}/\text{นาท}$) พบว่าการใช้สารละลาย DMSO 5% และ 10% มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มมีค่าดีที่สุดเท่ากับ 60% และ 66.67% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อใช้ propylene glycol และ acetamide อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ตารางที่ 15) การทดสอบทางสถิติพบว่า สารละลาย DMSO 5% และ 10% มีอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับ DMSO 15% และ Propylene glycol 5% และ 15% ที่มีอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มรองลงมา และมีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับ Acetamide 5% ที่มีอัตราการเคลื่อนที่ของสเปิร์มต่ำที่สุด

ตารางที่ 15 เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวหลังจากการแช่แข็งด้วยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารไครโอโพรเทคแทนท์ 3 ชนิด

สาร Cryoprotectant	ความเข้มข้น (%)			
	5%	10%	15%	20%
DMSO	60.00 $\pm$ 0.00 ^{a,1}	66.67 $\pm$ 3.85 ^{a,1}	26.67 $\pm$ 3.85 ^{b,1}	13.00 $\pm$ 3.85 ^{c,1}
Propylene glycol	26.67 $\pm$ 7.70 ^{a,2}	6.67 $\pm$ 3.85 ^{b,2}	26.67 $\pm$ 3.85 ^{a,1}	13.33 $\pm$ 3.85 ^{b,1}
Acetamide	13.33 $\pm$ 3.85 ^{a,3}	0.00	0.00	0.00

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

4. การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวอย่างง่ายในถังโฟม

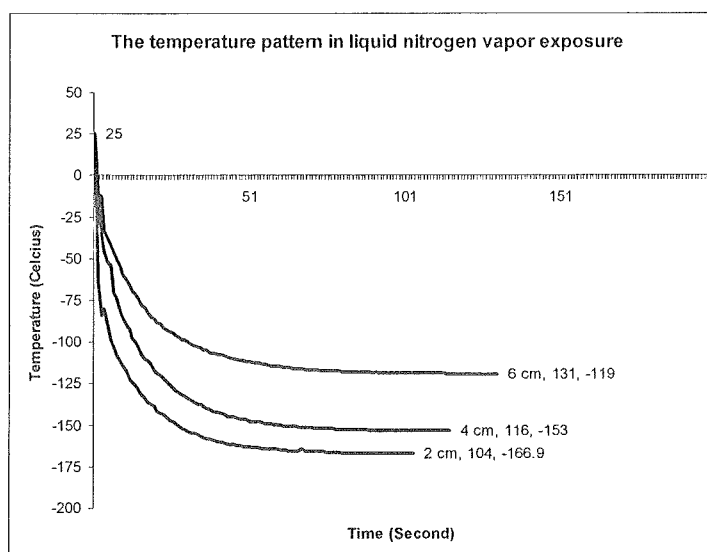
การนำน้ำเชื้อปลากะพงขาวมาแช่แข็งในไอไนโตรเจนเหลวภายในหลอดฟางขนาด 0.25 มิลลิเมตรที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลวระดับต่างๆกัน พบว่าน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่แช่แข็งด้วย DMSO ที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว 4 เซนติเมตร มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มดีที่สุดคือ $57.8 \pm 5.8\%$ ซึ่งไม่แตกต่างกับการแช่แข็งที่ความสูง 6 เซนติเมตร ($46.7 \pm 5.4\%$) ในขณะที่น้ำเชื้อปลากะพงขาวที่แช่แข็งที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว 2 เซนติเมตร มีการเคลื่อนที่ของสเปิร์มต่ำที่สุดเท่ากับ $22.2 \pm 8.9\%$ (ตารางที่ 16)

การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ความสูงต่างๆกันเมื่อเวลาการแช่แข็งผ่านไปได้พบว่า ที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว 2 เซนติเมตรมีอุณหภูมิกว่า -166.9 องศาเซลเซียสเมื่อเวลาผ่านไป 104 วินาที โดยที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว 4 และ 6 เซนติเมตรมีอุณหภูมิกว่า -153 และ -119 องศาเซลเซียส เมื่อเวลาผ่านไป 116 วินาที และ 131 วินาทีตามลำดับ (รูปที่ 13)

ตารางที่ 16 เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวหลังการแช่แข็งในถังโฟมที่ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว 2, 4 และ 6 เซนติเมตร

ความสูงเหนือผิวหน้าไนโตรเจนเหลว (ซม.)	เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม (%)
2	22.2 ± 8.9^b
4	57.8 ± 5.8^a
6	46.7 ± 5.4^a

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)



รูปที่ 13 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ความสูง 2, 4 และ 6 เซนติเมตรเหนือไนโตรเจนเหลว

4. การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวในปริมาณต่างๆกัน

การแช่แข็งน้ำเชื้อปลากะพงขาวในหลอดฟางขนาด 0.25 และ 0.5 ซีซี และหลอดโคริโอไวโอล 2 ซีซี ด้วยอัตราการลดอุณหภูมิที่ระดับ 10°C /นาที พบว่า การแช่แข็งในหลอดฟางขนาด 0.25 ซีซี ให้ผลการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีประสิทธิภาพต่ำกว่าการใช้หลอดฟางขนาด 0.5 ซีซี และหลอดโคริโอไวโอลขนาด 2 ซีซี โดยแม้ว่าหลังการแช่แข็งใหม่ๆในภาชนะทั้ง 3 รูปแบบจะไม่มี ความแตกต่างกันต่อประสิทธิภาพการเก็บรักษา แต่เมื่อเก็บรักษาผ่านไป 3 เดือน พบว่าน้ำเชื้อแช่แข็งที่เก็บรักษาในหลอดฟางขนาด 0.5 ซีซี และหลอดโคริโอไวโอลขนาด 2 ซีซี มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มหลังการละลายมีค่าประมาณ 70% ในขณะที่น้ำเชื้อที่เก็บรักษาในหลอดฟางขนาด 0.25 ซีซี มีค่าประมาณ 25% (ตารางที่ 17) อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสเปิร์มหลังการละลาย (percentage of viable sperm) ที่ย้อมสีด้วย eosin-nigrosin ในชุดการทดลองที่ใช้หลอดฟางขนาด 0.25 และ 0.5 ซีซี และหลอดโคริโอไวโอลขนาด 2 ซีซีมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 17 เปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์มปลากะพงขาวที่แช่แข็งและเก็บรักษาในหลอดฟาง 0.25 และ 0.5 ซีซี และหลอดโคริโอไวโอล 2 ซีซีในถังไนโตรเจนเหลว

ภาชนะที่เก็บ	ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)			
	0	1	2	3
หลอดฟาง 0.25 ซีซี	$86.7 \pm 3.7^{a,1}$	$42.4 \pm 4.7^{b,2}$	$33.3 \pm 6.7^{b,2}$	$25.3 \pm 6.7^{b,2}$
หลอดฟาง 0.5 ซีซี	$82.2 \pm 4.6^{a,1}$	$79.5 \pm 3.1^{a,1}$	$75.5 \pm 3.9^{a,1}$	$70.2 \pm 3.2^{a,1}$
หลอดโคริโอไวโอล	$91.1 \pm 2.9^{a,1}$	$84.2 \pm 4.6^{a,1}$	$80 \pm 4.2^{a,1}$	$75.6 \pm 6.7^{a,1}$

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 18 เปอร์เซนต์การมีชีวิตของสเปิร์มปลากะพงขาวที่แช่แข็งและเก็บรักษาในหลอดฟาง 0.25 และ 0.5 ซีซี และหลอดไครโอไววอล 2 ซีซีในถังไนโตรเจนเหลว

ภาชนะที่เก็บ	ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)			
	0	1	2	3
หลอดฟาง 0.25 ซีซี	96.6 ± 2.9 ^{a,1}	92.3 ± 3.4 ^{a,1}	89.6 ± 4.1 ^{a,1}	81.8 ± 4.2 ^{a,1}
หลอดฟาง 0.5 ซีซี	94.7 ± 3.5 ^{a,1}	95.7 ± 2.3 ^{a,1}	91.7 ± 4.3 ^{a,1}	89.2 ± 3.9 ^{a,1}
หลอดไครโอไววอล	97.5 ± 3.1 ^{a,1}	93.5 ± 3.3 ^{a,1}	92.4 ± 3.7 ^{a,1}	85.8 ± 4.1 ^{a,1}

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

5. การทดสอบความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ของน้ำเชื้อปลากะพงขาวแช่แข็ง

การทดสอบความสามารถของน้ำเชื้อปลากะพงขาวที่เก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวต่อไข่ปลากะพงขาว พบว่า น้ำเชื้อสดสามารถปฏิสนธิกับไข่ได้ $72.4 \pm 5.2\%$ ในขณะที่น้ำเชื้อแช่แข็งที่เก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวนาน 16 วันสามารถปฏิสนธิกับไข่ได้ประมาณ $64.4 \pm 4.3\%$ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับกลุ่มควบคุม อัตราการฟักของไข่ที่ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสดมีค่า $52.7 \pm 5.1\%$ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับน้ำเชื้อแช่แข็งที่ให้ค่าประมาณ $44.8 \pm 5.3\%$

6. การศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อปลากะพงขาวแช่แข็ง

น้ำเชื้อปลากะพงขาวที่แช่แข็งไว้ในไนโตรเจนเหลวนาน 3 ชั่วโมง (เดือนที่ 0) ถูกนำมาละลายมีค่าเปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ และการมีชีวิตของสเปิร์มเท่ากับ 96.6 ± 2.9 และ 95.7 ± 2.3 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับน้ำเชื้อสดที่มีค่า 91.7 ± 3.8 และ $96.6 \pm 2.9\%$ ตามลำดับ (ตารางที่ 19) น้ำเชื้อแช่แข็งทั้งหมดที่แช่แข็งตั้งแต่เดือนที่ 1-6 มีค่าเฉลี่ยการเคลื่อนที่สเปิร์ม และค่าเฉลี่ยการมีชีวิตของสเปิร์มอยู่ระหว่าง $85.8 - 95.7\%$ และ $90.4 - 97.1\%$ ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับน้ำเชื้อสด ($P<0.05$)

ตารางที่ 19 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของสเปิร์ม และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสเปิร์มปลากะพงขาว
ที่แช่แข็งและเก็บรักษาในถังไนโตรเจนเหลวระยะเวลา 6 เดือน

ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)	การเคลื่อนที่ (%)	การมีชีวิต (%)
น้ำแข็งสด	91.7 ± 3.8^a	96.6 ± 2.9^a
0	96.6 ± 2.9^a	95.7 ± 2.3^a
1	95.7 ± 2.3^a	96.8 ± 2.5^a
2	93.5 ± 3.3^a	94.9 ± 3.6^a
3	89.6 ± 4.1^a	97.1 ± 2.2^a
4	89.6 ± 4.1^a	92.7 ± 4.3^a
5	86.7 ± 3.8^a	90.4 ± 2.6^a
6	85.8 ± 4.1^a	93.4 ± 3.4^a

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)