การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเผาะ (Mekong catfish, *Pangasius bocourti*) โดยวิธีการแช่แข็ง ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้ การทดลองที่ 1) ศึกษาผลของสาร extender ชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร cryoprotectant ที่มีผลต่อเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเผาะโดยวิธีการแช่แข็ง ซึ่งในการทดลองนี้ได้แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มการทดลองย่อยตามชนิดของสาร cryoprotectant คือ (dimethyl sulfoxide-DMSO, dimethyl acetamide-DMA, methanol-MeOH, และ Glycerol) ร่วมกับสาร extender 3 ชนิดคือ (Ginzburg fish ringer, Calcium- Free Hanks' Balanced Salt Solution-C-F HBSS และ 0.9% Sodium Chloride-NaCl) โดยใช้อัตราการลดอุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และเก็บน้ำเชื้อในไนโตรเจนเหลว (-196 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำเชื้อมาละลายที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งจากเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ (motility) เปอร์เซ็นต์การมีชีวิต (viability) และเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ (fertilization) ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ 10% DMSO ร่วมกับ C-F HBSS, 10% DMA ร่วมกับ C-F HBSS, 5% MeOH ร่วมกับ 0.9% NaCl และ 10% glycerol ร่วมกับ Ginzburg fish ringer ให้เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิสูงสุด (76, 60, 54 และ 45% ตามลำดับ) โดยเมื่อใช้ 10% DMSO ร่วมกับ C-F HBSS ให้เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิไม่แตกต่างกับน้ำเชื้อสด ($P>0.05$) นำผลการศึกษาที่ให้อัตราการปฏิสนธิสูงสุดในแต่ละชนิดของสาร cryoprotectant จากการทดลองที่ 1 (10% DMSO+C-F HBSS, 10% DMA+C-F HBSS, 5% MeOH+0.9% NaCl และ 10% glycerol+Ginzburg fish ringer) มาศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาเผาะ (การทดลองที่ 2) พบว่าอัตราการลดอุณหภูมิแบบ One-step freezing procedure (6, 8 และ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที) ให้ผลเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตไม่แตกต่างกันเมื่อใช้ 10% DMSO ร่วมกับ C-F HBSS ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการลดอุณหภูมิแบบ One-step, Two-steps และ Three-steps พบว่าอัตราการลดอุณหภูมิแบบ One-step (10 องศาเซลเซียสต่อนาที) ให้เปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิและเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้อัตราการลดอุณหภูมิแบบ Two-steps หรือ Three-steps ($P<0.05$)

This present study examined the feasibility cryopreservation of Mekong catfish, *Pangasius bocourti* sperm. Two experiment studies were carried out: (1) the effects of four cryoprotectants (dimethyl sulfoxide-DMSO, dimethyl acetamide-DMA, methanol-MeOH, and Glycerol) with three extenders (Ginzburg fish ringer, Calcium- Free Hanks' Balanced Salt Solution-C-F HBSS and 0.9% Sodium Chloride-NaCl), at 10 °C min^{-1} freezing rate on fertilization, motility and viability of *P. bocourti* sperm were investigated. Sperm were stored for 24 h in a liquid nitrogen container (-196 °C). They were then airthawed at room temperature (25 °C), and motility viability and fertilization rates were assessed. The highest fertilization rates of 76, 60, 54 and 45% were achieved with the combination of 10% DMSO+C-F HBSS, 10% DMA+C-F HBSS, 5% MeOH+0.9% NaCl and 10% glycerol+Ginzburg fish ringer, respectively. In addition, fertilization percentage was not difference with the control (fresh sperm) when using the combination of 10% DMSO and C-F HBSS ($P>0.05$). The highest fertilization rates in each cryoprotectant from the first study (10% DMSO+C-F HBSS, 10% DMA+C-F HBSS, 5% MeOH+0.9% NaCl and 10% glycerol+Ginzburg fish ringer) were used to investigate the effect of freezing rates on cryopreservation of *P. bocourti* sperm (experiment 2). One step freezing procedure at 6, 8 and 10 °C min^{-1} did not affect fertilization, motility and viability percentages when using 10% DMSO+C-F HBSS ($P>0.05$). Regarding to freezing procedures at One-step, Two-steps and Three-steps, found that One-step freezing procedure (10 °C min^{-1}) yielded a higher fertilization and viability rates than that of Two-steps or Three-steps freezing procedures ($P<0.05$).