

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2552. สถิติจำนวนกระบือในประเทศไทยแสดงเป็นรายภาค ปี 2552. กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ ศูนย์สารสนเทศ. กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์.
- กรมปศุสัตว์. 2553ก. การเลี้ยงกระบือ. กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ ศูนย์สารสนเทศ. กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์.
- กรมปศุสัตว์. 2553ข. การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อและการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง. กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ ศูนย์สารสนเทศ. กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์.
- โชค แปลงค้ำพล. 2552. ผลของชนิดน้ำยาเจือจาง และระดับกลีเซอรอลต่ออัตราการเคลื่อนที่และความสมบูรณ์ของอะโครโซมภายหลังการละลาย ในน้ำเชื้อแบบแช่แข็งของกระบือปลัก. รายงานการศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- เทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2542. การสืบพันธุ์ในสัตว์เลี้ยง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ปาริฉัตร สุขโต. 2544. เทคโนโลยีชีวภาพทางวิทยาการสืบพันธุ์เพื่อการผลิตปศุสัตว์. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- วรรณนิษา เต็มวงษ์. 2549. ผลกระทบของฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อและเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิกระบือปลัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย. 2542. การผสมเทียมในโค. ภาควิชาสัตวศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุรัชย์ ชาครีรัตน์. 2545. การสืบพันธุ์และการผสมเทียมโค-กระบือ. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Abbas, A. and S.M.H. Andrabi. 2002. Effect of different glycerol concentrations on motility before and after freezing, recovery rate, longevity and plasma membrane integrity of Nili-Ravi buffalo bull spermatozoa. Pak. Vet. J. 22:1-4.
- Ahmad, M. 1983. Effect of thaw rate on survival of buffalo spermatozoa frozen in straws. J. Dairy Sci. 67:1535-1538.

- Ahmad, K.M., A. Khan and M. Ahmad. 1988. Fertility of Nili-ravi buffalo bull frozen semen at different thawing temperatures. *Buffalo J.* 1:51-55.
- Ahmad, M., A. Khan, Z.A. Shah and K.M. Ahmad. 1996. Effects of removal of seminal plasma on the survival rate of buffalo bull spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 41:193-199.
- Aitken, R.J. and M.A. Baker. 2006. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Mol. Cell. Endocrinol.* 250:66-69.
- Al-Somai, N., R. Vishwanath, P. Shannon and P.C. Molan. 1994. Low molecular weight components in bovine semen diffusate and their effects on motility of bull sperm. *Reprod. Fertil. Dev.* 6:165-171. (Abstr)
- Alvarenga, M.A., F.O. Papa, F.C. Landim-Alvarenga and A.S.L Medeiros. 2005. Amides as cryoprotectants for freezing stallion semen : A review. *Anim. Reprod. Sci.* 89:105-113.
- Andrabi, S.M.H. 2009. Factors effecting the quality of cryopreserved buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Reprod. Dom. Anim.* 44:552-569.
- Andrabi, S.M.H., M.S. Ansari, N. Ullah, M. Anwar, A. Mehmood and S. Akhter. 2008. Duck egg yolk in extender improves the freezability of buffalo bull spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 104:427-433.
- Asadpour, R., S.M.A. Shoushtari , S.A. Rezaii and M.H.K. Ansari. 2007. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of buffalo bulls seminal plasma proteins and their relation with semen freezability. *Anim. Reprod. Sci.* 102:308-313
- Aurich, J.E., A. Kuhne, H. Hoppe and C. Aurich. 1996. Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology* 46:791-797.
- Axner, E., U. Hermansson and C.L. Forsberg. 2004. The effect of Equex STM paste and sperm morphology on post-thaw survival of cat epididymal spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 84:179-191.
- Azeredo, G.A., C.R. Esper and K.T. Resende. 2001. Evaluation of plasmamembrane integrity of frozen thawed goat spermatozoa with or without seminal plasma. *Small Rumin. Res.* 41:257-263.
- Baas, J.W., P.C. Molan and P. Shanon. 1983. Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 68:275-280.

- Bag, S., A. Josh, S.M.K. Naqvi, P.S. Rawat and J.P. Mittal. 2002. Effect of freezing temperature, at which straws were plunged into liquid nitrogen, on the post-thaw motility and acrosomal status of ram spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 72:175-183.
- Ball, B.A. and A. Vo. 2001. osmotic tolerance of equine spermatozoa and the effects of soluble cryoprotectants on equine sperm motility, viability and mitochondrial membrane potential. *J. Androl.* 22:1061-1069.
- Bearden, H.J., J.W. Fuquay and S.T. Willard. 2004. *Applied animals reproduction*, 6th. ed., Prentice Hall, New jersey.
- Bhosrekar, M.R. 2005. *Semen production in farm animals and artificial insemination*. Bookmark publications, Maharashtra, India.
- Bianchi, I., K. Calderama, E.F. Maschio, E.M. Madeira, R.R. Ulguima, C.D. Corcini, D.C. Bongalhardo, E.K. Corre, T. Lucia Jr., J.C. Deschamps and M.N. Corre. 2008. Evaluation of amides and centrifugation temperature in boar semen cryopreservation. *Theriogenology* 69:632-638.
- Brinsko S.P., E.C. Crockett and E.L. Squires. 2000. Effect of centrifugation and partial removal of seminal plasma on equine spermatozoal motility after cooling and storage. *Theriogenology* 54:129-136.
- Bucak, M.N., A. Atessahin and A.Yuce. 2008. Effect of antioxidants and oxidative stress parameters on ram semen after the freeze-thawing process. *Small Rumin. Res.* 75:128-134.
- Budworth, P.R., R.P. Amann and P.L. Chapman. 1988. Relationships between computerized measurements of motion of frozen-thawed bull spermatozoa and fertility. *J. Androl.* 9:41-53.
- Castellini, C., P. Lattaioli, M. Moroni and A. Minelli. 2000. Effect of seminal plasma on the characteristics and fertility of rabbit spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 63:275-282.
- Chalah, T., F. Seigneurin, E. Blesbois and J.P. Brillard. 1999. In vitro comparison of fowl sperm viability in ejaculates frozen by three different techniques and relationship with subsequent fertility in vivo. *Cryobiology* 39:185-191.

- Chelmonska, B., E. Lukaszewicz, A. Kowalczyk and A. Jerysz. 2006. The effect of DMA level on morphology and fertilising ability of Japanese quail (*Coturnix japonica*) spermatozoa. *Theriogenology* 65:451-458.
- Cheng, F.P., A. Fazeli, W.F. Voorhout, A. Marks, M.M. Bevers and B. Colenbrander. 1996. Use of peanut agglutinin to assess the acrosomal status and the zona pellucida-induced acrosome reaction in stallion spermatozoa. *J. Androl.* 17:674-682.
- Contri, A., C. Valorzb, M. Faustini, L. Wegher and A. Carluccioa. 2010. Effect of semen preparation on casa motility results in cryopreserved bull spermatozoa. *Theriogenology* 74:424-435.
- Dalimata A. M. and J. K. Graham. 1997. Cryopreservation of rabbit spermatozoa using acetamide in combination with trehalose and methyl cellulose. *Theriogenology* 48:831-841.
- Dhami, A.J. and K.L. Sahni. 1993. Effect of extenders, additives and deep freezing on the leakage of transaminases from murrah buffalo spermatozoa. *Buffalo J.* 1:55-64.
- Dhami, A.J., K.L. Sahni and G. Mohan. 1992. Effect of various cooling rates (from 30°C to 5°C) and thawing temperatures on the deep-freezing of *Bos Taurus* and *Bos Bubalis* semen. *Theriogenology* 38:565-574. (Abstr)
- Dhami, A.J., K.L. Sahni, G. Mohan and V.R. Jani. 1996. Effect of different variables on the freezability, post-thaw longevity and fertility of buffalo spermatozoa in the tropics. *Theriogenology* 46:109-120.
- Dott, H.M., R.A.P Harrison and G.C.A. Foster. 1979. The maintenance of motility and the surface properties of epididymal spermatozoa from bull, rabbit and ram in homologous seminal and epididymal plasma. *J. Reprod. Fert.* 55:113-124.
- Douard, V., D. Hermier, C. Labbec, M. Magistrini and E. Blesbois. 2005. Role of seminal plasma in damage to turkey spermatozoa during in vitro storage. *Theriogenology* 63:126-137.
- Fuller, B. and S. Paynter. 2004. Fundamentals of cryobiology in reproductive medicine. *Reprod. Biomed. Online* 9:680-691.
- Gordon, I. 1996. Controlled reproduction in cattle and buffaloes. CAB international, New york.
- Goyal, R.L., R.K. Tuli, G.C. Georgie and D. Chand. 1996. Comparison of quality and freezability of water buffalo semen after washing or sephadex filtration. *Theriogenology* 46:679-686.

- Graham, J.K. and E. Moce. 2005. Fertility evaluation of frozen/thawed semen. *Theriogenology* 64:492-504.
- Harshan, H.M., L.P. Singh, A. Arangasamy, M.R. Ansari and S. Kumar. 2006. Effect of buffalo seminal plasma heparin binding protein (HBP) on freezability and in vitro fertility of buffalo cauda spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 93:124-133.
- Hashemi, A., P. Farhoomand, R. Pirmohammadi, M. Nayebpor and S.Razzaghzadeh. 2007. Effect of extender and thawing methods on post thawing preservation. *J. Anim. Vet. Adv.* 6:1337-1339.
- Herold, F.C., J.E. Aurichb and D. Gerber. 2004. Epididymal sperm from the African buffalo (*Syncerus caffer*) can be frozen successfully with AndroMed[®] and with Triladyl[™] but the addition of bovine seminal plasma is detrimental. *Theriogenology* 61:715-724.
- Holt, W.V. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62:3-22.
- Hubalek, Z. 2003. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology* 46:205-229.
- Iqbal, N., I.H. Khan, M. Anzar and R.A. Choudhary. 1987. Effect of extenders on the extracellular release of transaminases from deep frozen buffalo spermatozoa. *Buffalo J.* 1:57-66.
- Jainudeen, M.R., T.A. Bongso and S. Dass. 1982. Semen characteristics of the swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim. Reprod. Sci.* 4:213-217. (Abstr)
- Jainudeen, M.R. and B. Hafez. 2000. Reproductive failure in males, pp. 279-289. In B. Hafez and E.S.E Hafez (ed.) *Reproduction in farm animals*, 7th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Jobim, M.I.M., E.R. Oberst, C.G. Salbego, D.O. Souza, V.B. Wald, F. Tramontina and R.C. Mattos. 2004. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of bovine seminal plasma proteins and their relation with semen freezability. *Theriogenology* 61:255-266.
- Kareskoski, M. and T. Katila. 2008. Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Anim. Reprod. Sci.* 107:249-256.



- Koonjaenak, S., A. Kunavongkrit, V. Chanatinart, S. Sirivaidyapong, T. Pinyopumimintr and H.R. Martinez. 2006. Semen quality of thai swamp buffalo artificial insemination bulls : comparison of production data from 1988-1993, 2001-2004 and 2004-2005. *Buffalo J.* 1:1-9.
- Koonjaenak, S., P. Pongpeng, S. Wirojwuthikul, A. Johannisson, A. Kunavongkrit and H. Rodriguez-Martinez. 2007a. Seasonality affects post-thaw plasma membrane intactness and sperm velocities in spermatozoa from Thai AI swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 67:1424-1435.
- Koonjaenak, S., V. Chanatinart, S. Aiumlamai, T. Pinyopumimintr and H. Rodriguez-Martinez. 2007b. Seasonality variation in semen quality of swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Thailand. *Asian J. Androl.* 9:92-101.
- Kumar, S., J. D. Millar and P. F. Watson. 2003. The effect of cooling rate on the survival of cryopreserved bull, ram, and boar spermatozoa: a comparison of two controlled-rate cooling machines. *Cryobiology* 46:246-253.
- Kumar, S., K.L. Sahni, B.R. Benjamin and G. Mohan. 1993. Effect of various levels of yolk on deep-freezing and storage of buffalo semen in different dilutors without adding glycerol. *Buffalo J.* 1:79-85.
- Kumar, S., K.L. Sahni and G. Mohan. 1992. Effect of different levels of glycerol and yolk on freezing and storage of buffalo semen in milk, tris and sodium citrate buffers. *Buffalo J.* 2:151-156.
- Kumaresan, A., M.R. Ansari and A. Garg. 2005. Modulation of postthaw sperm functions with oviduct proteins in buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.* 90:73-84.
- Kumaresan, A., M.R. Ansari, A. Garg and M. Kataria. 2006. Effect of oviductal proteins on sperm functions and lipid peroxidation levels during cryopreservation in buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.* 93:246-257.
- Love, C.C., S.P. Brinsko, S.L. Rigby, J.A. Thompson, T.L. Blanchard and D.D. Varner. 2005. Relationship of seminal plasma level and extender type to sperm motility and DNA integrity. *Theriogenology* 63:1584-1591.

- Mandal, D.K., P.K. Nagpaul and A.K. Gupta. 2003. Motion characteristics of murreh buffalo bull spermatozoa in various seasons and its relationship with functional integrity of the plasmallema. *Theriogenology* 60:349-358.
- Martinez-pastor, F., L. Anel, C. Guerra, M. Alvarez, A.J. Soler, J.J. Garde, C. Chamorro and P. Paz. 2006. Seminal plasma improves cryopreservation of Iberian red deer epididymal sperm. *Theriogenology* 66:1847-1856.
- McCool, C.J., J.V. Carney, G.A. Jayawardhana and S.G. Wolfe. 1988. Effects of microanaerobic environment on freezing of swamp buffalo semen. *Buffalo J.* 1:89-93.
- Medeiros, A.S.L., G.M. Gomes, M.T. Carmo, F.O. Papa and M.A. Alvarenga. 2002a. Cryopreservation of stallion sperm using different amides. *Theriogenology* 58:273-276.
- Medeiros, C.M.O., F. Forell, A.T.D. Oliveira and J.L. Rodrigues. 2002b. Current status of sperm cryopreservation : why is it better. *Theriogenology* 57:327-344.
- Michael, A., C. Alexopoulos, E. Pontiki, D. Hadjipavlou-Litina, P. Saratsis and C. Boscios. 2007. Effect of antioxidant supplementation on semen quality and reactive oxygen species of frozen-thawed canine spermatozoa. *Theriogenology* 68:204-212.
- Moore, A.I., E.L. Squires and J.K. Graham. 2005. Effect of seminal plasma on the cryopreservation of equine spermatozoa. *Theriogenology* 63:2372-2381.
- Mortimer, S.T. 2000. CASA Practical aspects. *J. Androl.* 21:515-524.
- Muino, R., M.M. Rivera, T. Rigau, J.E. Rodriguez-Gil and A.I. Pena. 2008. Effect of different thawing rates on post-thaw sperm viability, kinematic parameters and motile sperm subpopulations structure of bull semen. *Anim. Reprod. Sci.* 109:50-64.
- Mustafa, G., M. Anzar and M. Arslan. 1998. Separation of motile spermatozoa from frozen-thawed buffalo semen : swim up vs filtration procedures. *Theriogenology* 50:205-211.
- Nair, S. J., A.S. Brar, C.S. Ahuja, S.P.S. Sangha and K.C. Chaudhary. 2006. A comparative study on lipid peroxidation, activities of antioxidant enzymes and viability of cattle and buffalo bull spermatozoa during storage at refrigeration temperature. *Anim. Reprod. Sci.* 96:21-29.
- Noakes, D.E., T.J. Parkinson and G.W.C. England. 2001. *Author's veterinary reproduction and obstetrics*, 8th ed., Saunders, London.

- Nordin, W., M. Hilmi and T.A. Bongso. 1990. Semen characteristic related to age in growing swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Buffalo J. 2:161-166.
- Pant, H.C., R.K. Sharma, S.H. Patel, H.R. Shukla, A.K. Mittal, R.Kasiraj, A.K. Misra and J.H. Prabhakar. 2003. Testicular development and its relationship to semen production in Murrah buffalo bulls. Theriogenology 60:27-34.
- Pena-Martinez, A.I. 2004. Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. Anim. Reprod. Sci. 82-83:209-224.
- Perera, B. 2008. Reproduction in Domestic Buffalo. Reprod. Dom. Anim. 43:200-206.
- Pickett, B.W., J.J. Sullivan, W.W. Byers, M.M. Pace and E.E. Remmenga. 1975. Effect of centrifugation and seminal plasma on motility and fertility of stallion and bull spermatozoa. Fertil. Steril. 26:167-74. (Abstr)
- Rao, A.V.N., G.B. Haranath, G.S. Sekharam and J.R. Rao. 1986. Effect of thaw rates on motility, survival and acrosomal integrity of buffalo spermatozoa frozen in medium French straws. Anim. Reprod. Sci. 12:123-129. (Abstr)
- Rasul, Z., N. Ahmad and M. Anzar. 2001. Changes in motion characteristics, plasma membrane integrity, and acrosome morphology during cryopreservation of buffalo spermatozoa. J. Androl. 22:278-283.
- Rasul, Z., N. Ahmed and M. Anzar. 2007. Antagonist effect of DMSO on the cryoprotection ability of glycerol during cryopreservation of buffalo sperm. Theriogenology 68:813-819.
- Rasul, Z., M. Anzar, S. Jalali and N. Ahmad. 2000. Effect of buffering systems on post-thaw motion characteristics, plasma membrane integrity, and acrosome morphology of buffalo spermatozoa. Anim. Reprod. Sci. 59:31-41.
- Rahman, A., J.C. Dutta and C.K. Rajkonwar. 1988. A study on preservation of buffalo semen in two extenders. Buffalo J. 1:57-60.
- Saeed, A., R.A. Chaudhry, I.H. Khan and N.U. Khan. 1989. Studies on morphology of buffalo bull semen of different age groups. Buffalo J. 1:99-102.
- Salisbury G.W., N.L. Van Demark and J.R. Lodge. 1978. Physiology of Reproduction and Artificial insemination of Cattle, 2nd.ed, W.H. Freeman and Company, Sanfrancisco.

- Sansone, G., M.J.F. Nastro and A. Fabbrocini. 2000. Storage of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. Anim. Reprod. Sci. 62:55-76.
- SAS. 1998. User's Guide: V.6.12.SAS Institute Inc., Cary. NC.
- Shukla, M.K. and A.K. Misra. 2007. Effect of Bradykinin on Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*) semen cryopreservation. Anim. Reprod. Sci. 97:175-179.
- Singh, L.P., H.M. Harshan and M.R. Ansari. 2007. Effect of egg yolk and seminal plasma heparin binding protein interaction on the freezability of buffalo cauda epididymal spermatozoa. Anim. Reprod. Sci. 99:395-400.
- Songsasen, N., I. Yu, S. Murton, D.L. Paccamonti, B.E. Eilts, R.A. Godke and S.P. Leibo. 2002. Osmotic sensitivity of canine spermatozoa. Cryobiology 44:79-90.
- Stradaoli, G., T. Noro, L. Sylla and M. Monaci. 2007. Decrease in glutathione (GSH) content in bovine sperm after cryopreservation: Comparison between two extenders. Theriogenology 67:1249-1255.
- Sukhato, P., S. Thongsodseang, A. Utha and N. Songsasen. 2001. Effects of cooling and warming conditions on post thawed motility and fertility of cryopreserved buffalo spermatozoa. Anim. Reprod. Sci. 67:69-77.
- Tuli, R.K. and W. Holtz. 1994. Effect of glycerolization procedure and removal of seminal plasma on post-thaw survival and got-release from Boer goat spermatozoa. Theriogenology 42:547-555. (Abstr)
- Tuli, R.K., M.M. Galhotra, N.S. Dahiya and M.L. Kaker. 1984. Follicle stimulating hormone and luteinizing hormone levels in buffalo seminal plasma. Theriogenology 21:959-962. (Abstr)
- Tuli, R.K., M. Singh and J.S. Matharoo. 1981. Effect of different equilibration times and extenders on deep freezing of buffalo semen. Theriogenology 16:99-104.
- Vale, W.G. 2010. Deep freezing buffalo semen-state of art. Proceedings 9th World Buffalo Congress. Argentina. p.83-93.
- Vale, W.G., O.M. Ohashi, H.F.L. Ribeiro and J.S. Sousa. 1991. Semen freezing and artificial insemination in the water buffalo in the amazon valley. Buffalo J. 2:137-144.
- Watson, P.F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. Anim. Reprod. Sci. 60-61:481-492.

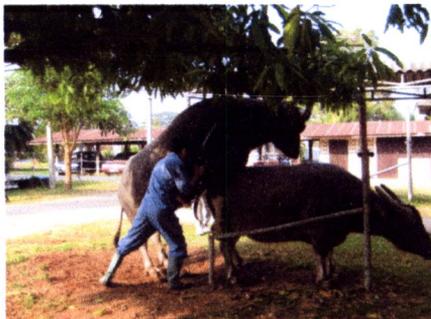
Wolley, D.M. and D.W. Richardson. 1978. Ultrastructural injury to human spermatozoa after freezing and thawing. *J. Reprod. Fert.* 53:389-394.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ภาพงานทดลอง



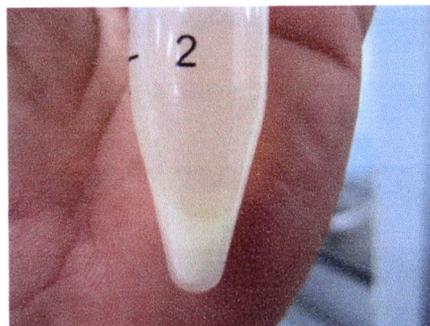
ภาพผนวกที่ 1 สภาพภายในโรงเรือน



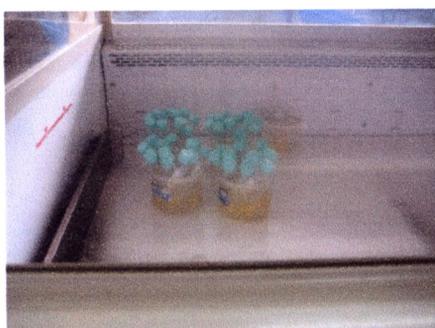
ภาพผนวกที่ 2 การรีดน้ำเชื้อพ่อพันธุ์กระบือปลักโดยใช้ AV



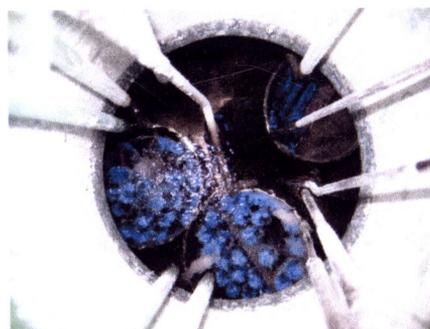
ภาพผนวกที่ 3 การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้นก่อนการทดลอง



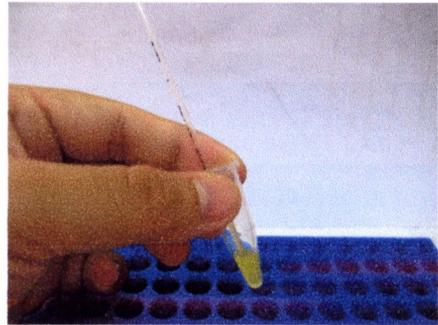
ภาพผนวกที่ 4 การปั่นน้ำเชื้อเพื่อแยกเซมินอพลาสมา



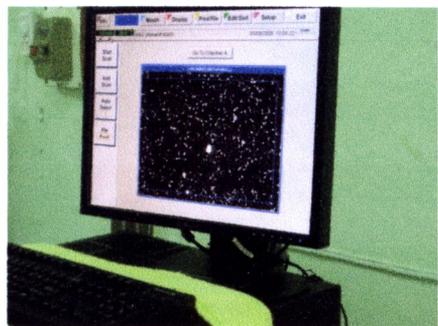
ภาพผนวกที่ 5 การลดอุณหภูมิจาก 37°C มาที่ 5°C ภายใต้เครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ



ภาพผนวกที่ 6 การแช่แข็งน้ำเชื้อโดยใช้เครื่องแช่แข็งและการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งลงในถังที่มีไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196°C



ภาพผนวกที่ 7 การละลายน้ำเชื้อกระบือปลัดแช่แข็งเพื่อตรวจคุณภาพหลังการแช่แข็ง



ภาพผนวกที่ 8 การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อโดยใช้เครื่อง CASA

ภาคผนวก ข
อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมน้ำยาเจือจาง

- 1) เครื่องชั่งสาร
- 2) Vortex
- 3) ขวดขนาด 500 มิลลิลิตร
- 4) หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร
- 5) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการรีดน้ำเชื้อ

- 1) Artificial vagina
- 2) หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อ

- 1) เครื่องแช่แข็งน้ำเชื้ออัตโนมัติ (Digicool 5300, IMV, France)
- 2) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
- 3) อ่างน้ำร้อน (water bath)
- 4) หลอดฟาง (straw) ขนาด 0.25 มิลลิลิตร
- 5) ผง polyvinyl alcohol
- 6) เทอร์โมมิเตอร์
- 7) ไมโครไปเปต (micropipette)
- 8) หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
- 9) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- 10) ปากคีบ (forceps)
- 11) Lack สำหรับเรียงน้ำเชื้อ

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อ

- 1) เครื่อง CASA (Hamilton-Throne, Biosciences, MA, USA)
- 2) เครื่อง spectrophotometer (Spectro 22RS, Labomed, Inc, USA)
- 3) กล้องจุลทรรศน์ชนิด light microscope
- 4) กล้องจุลทรรศน์ชนิด fluorescent
- 5) เครื่องอุ่นสไลด์ (warming plate)

- 6) สไลด์ ชนิด 2Xcell สำหรับตรวจการเคลื่อนที่ของอสุจิด้วยเครื่อง CASA
- 7) สไลด์ (slide) และกระจกปิดสไลด์ (cover glasses)
- 8) อ่างน้ำร้อน (water bath)
- 9) ไมโครไปเปต (micropipette)
- 10) Microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 11) เทอร์โมมิเตอร์
- 12) กรรไกร
- 13) กระจกยทชช
- 14) นาฬิกาจับเวลา

5. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมน้ำยาเจือจางและสารป้องกันความเสียหายจากการแช่แข็ง

- 1) Tris (Riede-de Haen[®])
- 2) Citric (Riede-de Haen[®])
- 3) Fructose (AnalaR[®])
- 4) Antibiotic (Penosep[®])
- 5) Glycerol (Sigma[®])
- 6) Dimethylsulfoxide (Fluka[®])
- 7) Dimethylacetamide (Fluka[®])
- 8) Dimethylformamide (Fluka[®])

6. สารเคมีที่ใช้ในการทำสีย้อมในการตรวจนับร้อยละของเซลล์อสุจิมีชีวิต

- 1) Eosin
- 2) Nigrosin

7. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจความสมบูรณ์ของอะโครโซมของเซลล์อสุจิ

- 1) FICT-PNA (Sigma[®])
- 2) Propidium iodide solution (Sigma[®])
- 3) Ethanol 95%

ภาคผนวก ค
การเตรียมสารเคมี

การเตรียมน้ำยาเจือจาง

1) Citric acid monohydrate (Riede-de Haen [®])	1.675	กรัม
2) Fructose (AnalaR [®])	1.25	กรัม
3) Tris (Riede-de Haen [®])	3.028	กรัม
4) Antibiotic (Penosep [®])	0.1	กรัม
5) ไข่แดง	20	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร และเก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 5°C

การเตรียมสีอีโอซิน นิโกรซิน

1) Eosin	1	กรัม
2) Nigrosin	5	กรัม

ละลายในสารละลาย sodium citrate 2.9% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

การเตรียมสีย้อมอะโครโซม

1) FITC-PNA (Sigma [®])	10	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2) Propidium iodide solution (Sigma [®])	12	ไมโครโมลต่อลิตร

เก็บสารไว้ที่อุณหภูมิ -20°C โดยไม่ให้สัมผัสแสง

ภาคผนวก ง

Parameter setting for CASA (computer assisted sperm analysis)

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดง Parameter setting for CASA (computer assisted sperm analysis)

Parameter	Value
Apply Sort	0
Frames Acquired	30
Frame Rate	60 Hz
Minimum Contrast	80
Minimum Cell Size	5 Pixels
Minimum Static Contrast	15
Straightness (STR), Threshold	70.0 %
Vap Cutoff	30.0 $\mu\text{m/s}$
Prog. Min VAP	50.0 $\mu\text{m/s}$
VSL Cutoff	15.0 $\mu\text{m/s}$
Cell Size	5 Pixels
Cell Intensity	70
Static Head Size	0.10 to 7.51
Static Head Intensity	0.44 to 1.70
Static Elongation	8 to 97
Slow Cells Motile	NO
Magnification	1.89
Video Frequency	60
Bright Field	NO
LED Illumination Intensity	2204
IDENT Illumination Intensity	3609
Temperature, Set	37.0 °C
Chamber depth	20.0 μm
Chamber position	1.6 mm
Chamber position B	25.0 mm
Chamber position C	0.0 mm
Chamber position D	0.0 mm
Chamber type	a
Field Selection Mode	AUTO
IDENT Fluorescent Option	OFF
Integrating Time	1 Frames



ประวัติผู้เขียน

นางสาวเกษศิริรินทร์ กลิ่นวิชัย เกิดเมื่อวันที่ 12 มีนาคม 2527 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สัตวศาสตร์) คณะเกษตรศาสตร์บางพระ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี (วิทยาเขตสุรินทร์) เมื่อปี พ.ศ. 2550 และศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปีการศึกษา 2550 ได้นำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ สัตวศาสตร์ครั้งที่ 5 ประจำปี 2552 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เรื่อง อิทธิพลของเซมิโนลพลาสมาต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในกระบือปลัก

