

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กฤษณ์ มงคลปัญญา. 2536. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง : หลักการ/วิธีการ/ประโยชน์. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 128 หน้า.
- ทัศนีย์ ภูพิพัฒน์, บุญนำ สุขทิศ, รังสิต แยมเอิบสิน, วิสูตร ศศิวิมล และเพ็ญใจ แก้วจรรยา. 2532. การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาตะเพียนขาว และปลาสวาย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 101 สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, 14 หน้า.
- นลินี มารคแมน. 2527. การศึกษาเบื้องต้นกรรมวิธีเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาโดยวิธีแช่แข็ง. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 98 หน้า.

### ภาษาอังกฤษ

- Allen, G.R. 1985. *Lujanus argentimaculatus* (Forsskål, 1775). FAO species catalogue, Vol. 6 snappers of the world, pp. 58-60.
- Alderson, R. and Macnell, A.J. 1984. Preliminary investigations of cryopreservation of milt of Atlantic salmon (*salmo salar*) and its application to commercial farming. Aquaculture 43: 351-354.
- Baynes, S.M. and Scott, A.P. 1987. Cryopreservation of Rainbow Trout Spermatozoa: the influence of sperm quality, egg quality and extender composition on post-thaw fertility. Aquaculture 66: 53-67.
- Billard, R. 1978b. Some data on gametes preservation and artificial insemination in teleost fish. Actes Colloq. Cent. Nat. Exploitation Oceans(CNEXO) 8. pp. 59-73.
- Billard, R., Petit, J., Jalabert, B. and Szollosi, D. 1974. Artificial insemination in trout using a sperm diluent. Early Life History of fish. pp. 715-723.

- Bolla, S., Holmeffjord, I. and Refstie, T. 1987. Cryogenic preservation of Atlantic halibut sperm. Aquaculture 65: 371-374.
- Bishop, D.W. 1962. Sperm motility. Physiol. Rev. 42: 1-59.
- Caylor, R.E., Biesiot, P.M. and Franks, J.S. 1994. Culture of cobia (*Rachycentron canadum*): cryopreservation of sperm and induced spawning. Aquaculture 125: 81-92.
- Chao, N.H., Chao, W.C., Liu, K.C. and Liao, I.C. 1987. The properties of tilapia sperm and its cryopreservation. J. Fish Biol. 30: 107-118.
- Chao, N.H., Chen, H.P. and Liao, I.C. 1975. Study on Cryogenic Preservation of Gray Mullet Sperm. Aquaculture 5: 389-406.
- Doi, M. and Singhagriwan, T. 1993. Biology and Culture of The Red Snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. The Research Project of Fishery Resource Development in The Kingdom of Thailand. 51 p.
- Douglas, T. 1993. Genetics for Fish Hatchery Managers. Second Edition. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Erdahl, A.W., Erdahl, D.A. and Graham, E.F. 1984. Some factors affecting the preservation of salmonid spermatozoa. Aquaculture 43: 341-350.
- Franzen, A. 1970. Phylogenetic aspects of the morphology of spermatogenesis. Comparative Spermatology, pp 29-46. New York : Acedemic Press.
- Graham, E.F. and Erdahl, D.A. 1980. Preservation of gametes of freshwater fish. 9th International congress on animal Reproduction and A.I. Vol. II: 31-326. 16-20 June. Madrid Spain.
- Ginsberg, A.S. 1963. Sperm-egg association and its relationship to the activation of the egg in salmonid fishes. J. Embryol. exp. Morph. 11: 13-33.
- Graybill, J.R. 1968. Cryo-preservation of viable fish sperm. M.sc. Thesis. Oregon State Univ. Corvallis, Oreg.
- Graybill, J.R. and Horton, H.F. 1969. Limited fertilization of steelhead trout eggs with cryopreservation sperm. J. Fish. Res. Bd Can. 26: 1400-1404.
- Harvey, B. 1983. Cryopreservation of *Sarotherodon Mossambicus* spermatozoa. Aquaculture 32: 313-320.

- Horton, H.F., Graybill, J.R. and Wu, A.S.H. 1967. Cryogenic preservation of viable fish sperm. Contract Completion Rep., Dep. Fish. Wildl., Oregon State Univ., Corvallis, Oreg. 93 p.
- Horton, H.F. and Ott, A.G. 1976. Cryopreservation of fish spermatozoa and ova. J. Fish. Res. Bd Can. 33: 955-1000.
- Hodgins, H.O. and Ridgway, G.J. 1964. Recovery of viable salmon spermatozoa after fast-freezing. Orig. Fish Cult. 26. 95 p.
- Hoyle, R.J. and Idler, D.R. 1968. Preliminary results in the fertilization of eggs with frozen sperm of Atlantic salmon (*salmo salar*). J. Fish. Res. Bd Can. 25: 1295-1297.
- Instruments for Veterinary Medicine (I.V.M.). 1976. The French Straw Technique. L'Aigle-France:I.M.V.
- Kossmann, H. 1973. Versuch zur Konservierung des Karpfenspermas. Arch. FischWiss. 24: 125-128.
- Leung, L.K.P. 1987. Cryopreservation of Spermatozoa of the Barramundi, *Lates calcarifer* (Teleostei : Centropomidae). Aquaculture 64: 243-247.
- Lovelock, J.E. and Bishop, M.W.H. 1959. Preservation of freezing damage to living cells by Dimethyl Sulphoxide. Nature, Lond. 183. pp. 1394.
- Mann, T. 1964. The biochemistry of semen and the Male Reproductive Tract. London: Methuen. pp. 493.
- Masanori, D. and Singhagriwan, T. 1993. Biology and Culture of The Red Snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. The Research of Fishery Resource Development in the Kingdom of Thailand. pp. 51.
- Mitchum, D.H. 1963. Study of the preservation of fish sperm by freezing. Wyo. Game Fish. Comm. Completion Rep. Fw-3-R-10: 33-37.
- Morris, G.J. 1981. Cryopreservation: An introduction to cryopreservation in culture collection. Natural Environment Research Council. pp. 27. .
- Mounib, M.S., Hwang, P.C. and Idler, D.R. 1968. Cryogenic preservation of Atlantic cod (*Gadus morhua*) sperm. J. Fish. Res. Bd Can. 25: 2623-2632.
- Nomura, M. 1964. Studies on reproduction of rainbow trout with special reference to egg taking. VI. The activities of spermatozoa in different diluent and preservation of semen. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish. 30: 732-733.

- Okada, S. and Ito, T. 1955. On the activity and fertilizing capacity of sperm in dog-salmon (*O. keta*). Scient. Rep. Hokkaido Fish Hatch. 10: 21-31.
- Ott, A.G. 1970. Fertilization of salmonid eggs with cryopreserved sperm. M.sc. Thesis Oregon State Univ. Corvallis. Oreg.
- Ott, A.G. 1975. Cryopreservation of Pacific salmon and Steelhead trout sperm. Ph.D. Thesis. Oregon State Univ. Corvallis. Oreg.
- Ott, A.G. and Horton, H.F. 1971a. Fertilization of chinook and coho salmon eggs with cryo-preserved sperm. J. Fish. Res. Bd Can. 28: 745-748.
- Ott, A.G. and Horton, H.F. 1971b. Fertilization of steelhead trout (*Salmo gairdneri*) eggs with Cryo-preserved sperm. J. Fish. Res. Bd Can. 28:1915-1918.
- Petit, J., Jalabert, B., Chevassus, B. and Billard, R. 1973. L'insemination artificielle de la truite. 1. Effects du taux de dilution, du pH et de la pression osmotique du diluer sur la fecondation. Ann. Hydrobiol. 4: 201-210.
- Piironen, J. and Hyvarinen, H. 1983. Cryopreservation of spermatozoa of the whitefish *Coregonus muksun* Pallas. J. Fish Biol. 22: 159-163.
- Piironen, J. 1987. Factors Affecting Fertilization Rate with Cryopreserved Sperm of Whitefish (*Coregonus muksun* Pallas). Aquaculture 66: 347-357.
- Rana, K.J. and McAndrew, B.J. 1989. The viability of Cryopreserved Tilapia Spermatozoa. Aquaculture 76: 335-345.
- Scheerer, P.D. and Thorgaard, G.H. 1983. Increased Survival in Salmonid Hybrids by Induced Triploidy. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40: 2040-2044.
- Scott, A.P. and Baynes, S.M. 1980. A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. J. Fish Biol. 17: 707-739.
- Sorensen, A.A., Jr. 1979. Animal Reproduction, Principles and Practices. New York, McGraw-Hill Book Comp. Inc.
- Soudakevicz, T. 1874. Report on the progress of pisciculture in Russia. Rep. U.S. Commnr Fish. 2: 493-513.
- Stoss, J., Buyukhatipoglu, S. and Holtz, W. 1978. Short-term and cryopreservation of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) sperm. Ann. Biol., anim. Biochim. Biophys. 18: 1077-1082.

- Stoss, J. and Holtz, W.1981. Cryopreservation of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) sperm I. Effect of thawing solution, sperm density and interval between thawing and insemination. Aquaculture 22: 97-104.
- Stoss, J. and Holtz, W.1983. Cryopreservation of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) sperm IV. The effect of DMSO concentration and equilibration time on sperm survival, sucrose and KCl as extender components and the osmolality of the thawing solution. Aquaculture 32: 321-330.
- Stoss, J.1983. Fish Gamete Preservation and Spermatozoa Physiology. Fish Physiology IXB: 305-350.
- Suzuki, T., Komada, H., Takaki, R., Arai, K. and Kozima, T. 1995. Relation between Toxicity of Cryoprotectant DMSO and Its Concentration in Several Fish Embryos. Fisheries Science : 61(2). 193-197.
- Thorgaard, G.H., Scheerer, P.D., Hershberger, W.K. and Myers, J.M. 1990. Androgenetic Rainbow Trout Produced Using Sperm from Tetraploid Males Show Improved Survival. Aquaculture 83: 215-221.
- Truscott, B., Idler, D.R., Hoyle, R.J. and Freeman, H.C.1968. Sub-Zero preservation of Atlantic salmon sperm. J. Fish. Res. Bd Can. 25: 363-372.
- Truscott, B. and Idler, D.R.1969. An improved extender for freezing Atlantic salmon spermatozoa. J. Fish. Res. Bd Can. 26(12): 3254.
- Wicker, A.M. and Huish, M.T.1982. Morphology of bluegill (*Lepomis macrochirus*), chain pickerel (*Esox niger*) and yellow perch (*perca flavescens*) spermatozoa, as determined by scanning electron microscopy. Copeia 1982 (4): 955-957.
- Wilkinson, L. 1988. SYSTAT: The System for Statistics. Evanston, IL: SYSTAT.
- Withler, F.C. and Morley, R.B.1968. Effect of chilled storage on viability of stored ova and sperm of sockeye and pink salmon. J. Fish. Res. Bd Can. 25: 2695-2699.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

## สีย้อมประเมินคุณภาพน้ำเชื้อปลา

## 1. ส่วนผสมสีย้อม Eosin-Nigrosin

Eosin B	1	กรัม
Nigrosin	5	กรัม
3% Sodium Citrate Dihydrate	ในกัณฑ์กัณฑ์ 2 ครั้ง	100

มิลลิลิตร

## 2. ส่วนผสมสีย้อม Eosin-Fast Green FCF

Fast green FCF	2	กรัม
Eosin B	0.8	กรัม
M / 8 Phosphate buffer (pH 7.3 - 7.4)	100	มิลลิลิตร
- buffer เตรียมจาก 22 กรัม $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	ในน้ำกัณฑ์ 500	มิลลิลิตร
รวมกับ 8.5 กรัม $\text{KH}_2\text{PO}_4$	ในน้ำกัณฑ์ 500	มิลลิลิตร
- สีย้อมนำมาต้มเล็กน้อยแล้วนำไปกรอง		

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ภาคผนวก ข

## ตัวอย่างการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม Systat

การใช้โปรแกรม Systat ในการวิเคราะห์ข้อมูลในที่นี่จะใช้ตัวอย่างการวิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลองที่ 3 เพื่อหาความแตกต่างของการลด และเพิ่มอุณหภูมิ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตหลังการละลาย

## 1. การเรียกใช้โปรแกรม

สามารถที่จะเรียกใช้โปรแกรมโดยการพิมพ์ชื่อโปรแกรมบนพร้อมทของไดเรกทอรีที่มีโปรแกรมนี้อยู่ หรือพิมพ์ชื่อ Module ที่ต้องการในกรณีนี้จะใช้การพิมพ์ Edit เพื่อเรียกใช้ Edit Module สำหรับการใส่ข้อมูล

## 2. การใส่ข้อมูล

ในการใส่ข้อมูลจะใส่ข้อมูลของ Treatment ที่ใช้ในการทดลองในแถว Case ในที่นี้ REP = จำนวนซ้ำในการทดลอง, FRE = วิธีในการลดอุณหภูมิ, THW = วิธีในการละลาย และ LDS = เปอร์เซนต์ของอสุจิที่ได้จากการย้อมสี

Case	REP	FRE	THW	LDS
1	1	1	1	56.4
2	2	1	2	53.2
3	3	1	1	52.7
4	1	2	2	54.7
5	2	2	1	52
6	3	2	2	51
7	1	3	1	49.5
8	2	3	2	56.6

> SAVE <FILENAME>



### 3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ภายหลังจากการ save ชื่อของข้อมูลที่ต้องการแล้วจะเริ่มการคำนวณโดยการเรียก Module ของสถิติที่ต้องการออกมาใช้ จากการทำงานของ Stats Module เพื่อหาค่า MEAN, STANDARD DEV. และทดสอบการกระจายของข้อมูลด้วย BARTLETT TEST FOR HOMOGENEITY ด้วยการพิมพ์ stats บนพร้อมท ของ Edit Module

> STATS

STATS MODULE VER. 5.01

>

> OUTPUT = <FLIENAME>

> PRINT = LONG

> STATS LDS

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:

DIU = 1.000

FRE = 1.000

THW = 1.000

TOTAL OBSERVATIONS: 3

LDS

N OF CASES 3

MINIMUM 44.937

MAXIMUM 54.487

MEAN 49.092

STANDARD DEV 4.894

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:

DIU = 1.000

FRE = 1.000

THW = 2.000

TOTAL OBSERVATIONS: 3

LDS

N OF CASES	3
MINIMUM	44.691
MAXIMUM	61.111
MEAN	54.571
STANDARD DEV	8.704

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:

DIU	=	1.000
FRE	=	1.000
THW	=	3.000

TOTAL OBSERVATIONS: 3

LDS

N OF CASES	3
MINIMUM	46.597
MAXIMUM	52.632
MEAN	49.436
STANDARD DEV	3.033

---

SUMMARY STATISTICS FOR LDS

BARTLETT TEST FOR HOMOGENEITY OF GROUP VARIANCES = 37.692

APPROXIMATE F = 1.244      DF = 26, 937      PROBABILITY = 0.187

ANALYSIS OF VARIANCE

---

SOURCE	SUM OF SQUARES	DF	MEAN SQUARE	F	PROBABILITY
BETWEEN GROUPS	4369.565	26	168.060	4.911	0.000
WITHIN GROUPS	1847.765	54	34.218		

---

จากผลของ BARTLETT TEST FOR HOMOGENEITY แสดงให้เห็นว่า การกระจายของข้อมูลมีการกระจายแบบสุ่ม (Random) จึงสามารถที่จะนำมาหาความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ต่อสุจิจที่มีชีวิตระหว่างการลด และการเพิ่มอุณหภูมิด้วยวิธีต่างๆ โดยใช้ Mglh Module ด้วยการพิมพ์ Mglh ลงบนพร้อมท

> MGLH

MGLH MODULE VER 5.01

>

> OUTPUT = <FILENAME>

> CATEGORY REP FRE THW

> MODEL LDS = CONSTANT + REP + FRE + THW + DIU

> ESTIMATE

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

DIU

1.000 2.000 3.000

FRE

1.000 2.000 3.000

THW

1.000 2.000 3.000

REP

1.000 2.000 3.000

DEP VAR : LDS N : 81 MULTIPLE R : 0.670 SQUARED MULTIPLE R : 0.449

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
DIU	575.319	2	287.659	6.045	0.004
FRE	2022.883	2	1011.441	21.253	0.000
THW	149.244	2	74.622	1.568	0.215
REP	43.428	2	21.714	0.456	0.635
ERROR	3426.457	72	47.590		

จะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละสูตรของน้ำยาเจือจาง (DIU) และวิธีในลดอุณหภูมิ (FRE) ดังนั้นจึงนำมาทดสอบหาความแตกต่างระหว่างน้ำยาเจือจางในแต่ละสูตร และวิธีในการลดอุณหภูมิดังนี้

- > SELECT DIU = 3
- > MODEL LDS = CONSTANT + DIU
- > ESTIMATE

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

DIU

1.000 2.000

DEP VAR : LDS N : 54 MULTIPLE R : 0.338 SQUARED MULTIPLE R : 0.114

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
DIU	568.661	1	568.661	6.694	0.013
ERROR	4417.771	52	84.957		

- > SELECT DIU = 2
- > MODEL LDS = CONSTANT + DIU
- > ESTIMATE

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

DIU

1.000 3.000

DEP VAR : LDS N : 54 MULTIPLE R : 0.254 SQUARED MULTIPLE R : 0.065

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
DIU	200.445	1	200.445	3.597	0.063
ERROR	2897.776	52	55.726		

> SELECT DIU = 1  
 > MODEL LDS = CONSTANT + DIU  
 > ESTIMATE

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

DIU

2.000 3.000

---

DEP VAR : LDS N : 54 MULTIPLE R : 0.152 SQUARED MULTIPLE R : 0.023

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
DIU	93.872	1	93.872	1.230	0.273
ERROR	3968.476	52	76.317		

---

> SELECT FRE = 3  
 > MODEL LDS = CONSTANT + FRE  
 > ESTIMATE

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

FRE

1.000 2.000

---

DEP VAR : LDS N : 54 MULTIPLE R : 0.626 SQUARED MULTIPLE R : 0.392

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
FRE	1591.830	1	1591.830	33.594	0.000
ERROR	2463.999	52	47.385		

---

- > SELECT FRE = 2
- > MODEL LDS = CONSTANT + FRE
- > ESTIMATE

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

FRE

1.000      3.000

DEP VAR : LDS    N : 54    MULTIPLE R : 0.578    SQUARED MULTIPLE R : 0.334

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
FRE	1438.618	1	1438.618	26.112	0.000
ERROR	2864.844	52	55.093		

- > SELECT FRE = 1
- > MODEL LDS = CONSTANT + FRE
- > ESTIMATE

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

FRE

2.000      3.000

DEP VAR : LDS    N : 54    MULTIPLE R : 0.036    SQUARED MULTIPLE R : 0.001

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
FRE	3.875	1	3.875	0.066	0.798
ERROR	3060.052	52	58.847		



### ประวัติผู้เขียน

นายวิโรจน์ หิรัญชัยพฤกษ์ เกิดเมื่อวันที่ 6 กรกฎาคม พ.ศ. 2514  
 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต  
 สาขาวิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เมื่อปี พ.ศ. 2535  
 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ  
 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2536



สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย