

การเปรียบเทียบการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris egg yolk) กับ สารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) ในการแช่แข็ง น้ำเชื้อโคต่อคุณภาพอสุจิ

Comparison of semen extender basis (Tris egg yolk) and commercial extender (Continental™ Extender) in frozen bovine semen on sperm quality

ศรุตวิงศ์ บุญคง^{1*}, ชัยพฤกษ์ หงษ์ลัดดาพร¹, อภิเชก มาตรา², อธิศักดิ์ ศิริบุรุษ²,
สว่าง กุลวงษ์¹, สุธาสินี ครุฑทกะ¹ และ พิทักษ์ น้อยเมล¹

Saruttiwong Boonkong^{1*}, Chaiyapruet Hongladdaporn¹, Apisek Matra²,
Athisak Siriburee², Sawang Kullawong¹, Sutasinee Khuttaka¹ and Pitak Noimay¹

บทคัดย่อ: การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris egg yolk) กับสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) ในการแช่แข็งน้ำเชื้อโคต่อคุณภาพอสุจิ ตัวอย่างน้ำเชื้อแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ใช้สารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris egg yolk) และกลุ่มที่ 2 ใช้สารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) นำตัวอย่างน้ำเชื้อมาประเมินการเคลื่อนที่และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าโดยใช้เครื่อง computer assisted sperm analysis (CASA) และประเมินร้อยละอสุจิตัวเป็นและอสุจิตัวตายต่อช่วงเวลารักษาแช่แข็ง โดยวิธีการย้อมสีอสุจิ (อีโอสิน-ไนโกรซิน) ในวันที่ 1 2 และ 3 ของการเก็บรักษา ผลการศึกษาพบว่า หลังการแช่แข็งสารเจือจางน้ำเชื้อในกลุ่มที่ 2 มีร้อยละการเคลื่อนที่และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อกลุ่มที่ 1 ($P<0.05$) และผลของช่วงเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งต่อร้อยละอสุจิตัวเป็น และอสุจิตัวตาย ในวันที่ 1 2 และ 3 ของการเก็บรักษา พบว่า กลุ่มที่ 2 มีร้อยละอสุจิตัวเป็นสูงกว่ากลุ่มที่ 1 ดังนั้นสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) ส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อดีกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris egg yolk) และมีความเป็นไปได้ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้มีคุณภาพ

คำสำคัญ: สารเจือจางน้ำเชื้อ, น้ำเชื้อแช่แข็ง, โค

ABSTRACT: The objective of this study was to compare the extender basis as (Tris egg yolk) and commercial extender (Continental™ Extender) in frozen bovine semen on sperm quality. The semen samples were divided into 2 groups. Group 1 was cryopreserved in extender basis (Tris egg yolk) and group 2 was cryopreserved in commercial extender (Continental™ Extender). The samples were evaluated the sperm motility and progressive motile sperm by using computer assisted sperm analysis (CASA) and evaluated the effect of storage time on percentages of live and dead sperm by using eosin-nigrosin staining at 1, 2 and 3 days of storage. The results showed

¹ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย อ.เมือง จ.เลย

Animal Science Program, Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University, MuangLoei, Loei

² ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดขอนแก่น 40002

North Eastern Bull Frozen Semen Production and Research Center, Khon Kaen

* Corresponding author: sarutti_21@hotmail.com

that the percentages of sperm motility and progressive motile sperm semen with extender in the group 2 were better than that of group 1 ($P < 0.05$), and percentage of live and dead sperm of frozen bovine semen at 1, 2 and 3 days of storage, showed that percentages of live sperm in group 2 were better than group 1. Therefore, commercial extender (Continental™ Extender) were better than extender basis (Tris egg yolk) and could be possible to produce frozen semen.

Keywords: Extender, Frozen semen, Bovine

บทนำ

ปัจจุบันนี้การผสมเทียมโคโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งเป็นที่นิยมกันอย่างกว้างขวางและได้ผลดี สามารถแพร่กระจายสัตว์พันธุ์ดีได้รวดเร็วขึ้น ซึ่งนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ของประเทศได้เป็นอย่างดี การผลิตน้ำเชื้อของสัตว์ให้มีคุณภาพที่ใช้ในการผสมเทียมนั้นเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการผสมติด ในการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งส่วนมากจะนิยมการตรวจ การเคลื่อนที่ (sperm motility) และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (progressive motile sperm) เพื่อประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อทั้งก่อนและหลังการแช่แข็ง ซึ่งกระบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมให้ประสบความสำเร็จนั้น จำเป็นต้องมีการเติมสารเจือจางน้ำเชื้อที่มีความเหมาะสม ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่หลากหลาย และน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่จะเลือกใช้เป็นส่วนสำคัญที่ต้องพิจารณา น้ำเชื้อแช่แข็งจึงเป็นเทคโนโลยีที่ต้องมีการพัฒนาเพื่อให้ได้คุณภาพของสุจิที่ดี โดยพิจารณาจากอัตราการผสมติดและอัตราการตั้งท้อง ตลอดจนอัตราการคลอดลูกสัตว์ที่ได้จำนวนมากขึ้น (Nunes and Salgueiro, 2011) ส่งผลถึงมูลค่าทางเศรษฐกิจของเกษตรกรตั้งแต่ระดับรายย่อยจนถึงระดับภูมิภาคให้ได้รับผลประโยชน์ทางเศรษฐกิจมากขึ้น จึงจะสามารถนับได้ว่าเป็นความสำเร็จในการพัฒนาเทคโนโลยีดังกล่าวได้

จากอดีตจนถึงปัจจุบันได้มีการพัฒนาสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อมาอย่างต่อเนื่อง และมีความหลากหลายทั้งนี้ น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่เลือกใช้สามารถรักษาคุณภาพของสุจิให้ดีที่สุดทั้งในช่วงของการแช่เย็น การลดอุณหภูมิจนกระทั่งแช่แข็งในถังไนโตรเจนเหลว คุณภาพของสุจิที่ดีหลังจากการแช่แข็งน้ำเชื้อเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจนเท่ากับอุณหภูมิของร่างกายของสัตว์เพื่อเตรียมนำไปผสมเทียมนั้น สุจิต้องแข็งแรง มีสัดส่วนของสุจิที่มีชีวิตและความสามารถเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูง สุจิต้องคงความสมบูรณ์ทั้งรูปร่างและ

ให้อัตราการผสมติด ไม่แตกต่างไปจากการผสมจริงตามธรรมชาติ ในกระบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งได้มีการพัฒนาสูตรสารเจือจางน้ำเชื้อทั้งในรูปแบบของสารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (TRIS egg yolk) (Crespiho et al., 2012) ซึ่งจะมีการเตรียมสารเจือจางน้ำเชื้อหลายขั้นตอน และสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะลดขั้นตอนในการเตรียมสารเจือจางน้ำเชื้อ เช่น สารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า AndroMed® สารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (MJ-EX2™ Extender) สารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบผลของสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) ต่อคุณภาพของสุจิของโค ดังนั้นจึงเป็นที่มาของวัตถุประสงค์ในครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris egg yolk) กับสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) ในการแช่แข็งน้ำเชื้อโคต่อคุณภาพของสุจิ

วิธีการศึกษา

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมน้ำยาเจือจาง ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (Tris egg yolk) คือใช้น้ำยาพื้นฐานประกอบด้วย Tris 3.785 กรัม Citric acid 2.125 กรัม Fructose 1.562 กรัม น้ำกลั่น 115 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส คนให้เข้ากันแล้วลดอุณหภูมิจนถึงอุณหภูมิห้องวัดค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 6.5-6.7 แล้วเติม Glycerol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมาเติมไข่แดง 31.25 มิลลิลิตร และยาปฏิชีวนะ (penicillin 125,000 IU และ Streptomycin 125 มิลลิกรัม) และ กลุ่ม 2 คือ สารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) ประเภทน้ำแช่แข็งปริมาณ 34 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 46 มิลลิลิตร และไข่แดงปริมาณ 20 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

การรีดน้ำเชื้อโค

การเตรียมโคพ้อพันธุ์สำหรับรีดน้ำเชื้อโดยใช้ตัวผู้เป็นตัวล่อ เจียบสงบไม่มีสิ่งรบกวน โดยทำความสะอาดและตัดขนบริเวณรอบๆ หนึ่งหุ้มลึงค์ให้สั้นเตรียม AV (Artificial vagina) โดยเติมน้ำอุ่นอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ใน AV ให้เต็มปิดจุกให้แน่นและอัดอากาศเข้าไปให้ยางใน AV ตึงพอประมาณ หล่อลื่นโดยใช้เจลหล่อลื่น เมื่อเตรียมตัวล่อและ AV พร้อมแล้ว นำพ้อพันธุ์มาเดินวนบริเวณท้ายของตัวล่อเพื่อกระตุ้นให้เกิดความกำหนัด ก่อนจะรีดน้ำเชื้อ ผู้รีดถือ AV ด้วยมือข้างที่ถนัด ให้ปลายของ AV หันไปทางด้านหน้าของตัวล่อ เมื่อโคพ้อพันธุ์ขึ้นทับตัวล่อให้ผู้รีดจับที่หนึ่งหุ้มลึงค์ เบี่ยงลึงค์เข้ามาสวมใน AV อย่างนุ่มนวลและรวดเร็ว เมื่อโคพ้อพันธุ์กระแทกแสดงว่าหลังน้ำเชื้อแล้ว จากนั้นนำน้ำเชื้อที่รีดได้ไปย้งห้องปฏิบัติการเพื่อดำเนินการต่อไป (เลขที่คำขอรับใบอนุญาตใช้สัตว์ U1-02945-2559)

การเจือจางน้ำเชื้อโค

เมื่อรีดเก็บน้ำเชื้อแล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำน้ำเชื้อมาวัดความเข้มข้นอสุจิโดยใช้เครื่องวัดความเข้มข้นอสุจิ (น้ำเชื้อ 20 ไมโครลิตร และ น้ำกลั่น 3,960 ไมโครลิตร) และประเมินการเคลื่อนที่ของอสุจิ เมื่อได้ค่าความเข้มข้นและค่าการเคลื่อนที่ของอสุจิแล้ว นำมาคำนวณจำนวนหลอดน้ำเชื้อ (หลอดน้ำเชื้อขนาด 0.25 มิลลิลิตร) โดยใช้ อสุจิ 20 ล้านตัวต่อหลอดจากสูตร (ร้อยละการเคลื่อนที่ $\times$ ปริมาตรน้ำเชื้อ $\times$ ความเข้มข้นอสุจิ / 20×10^6) เมื่อได้จำนวนหลอดน้ำเชื้อแล้ว คำนวณสารเจือจางที่ต้องเติมจากสูตร (ปริมาตร $\times$ จำนวนหลอด) - น้ำเชื้อที่รีดได้ จากนั้นทำการเจือจางน้ำเชื้อและส่วนที่เหลือนำน้ำเชื้อบรรจุในหลอดเก็บน้ำเชื้อ โดยเก็บตัวอย่างทั้งสองกลุ่มมาวิเคราะห์การเคลื่อนที่ก่อนการแช่แข็ง และนำเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำเข้าเครื่องลดอุณหภูมิอัตโนมัติ เพื่อลดอุณหภูมิให้เหลือ -140 องศาเซลเซียส (5 องศาเซลเซียส ให้เหลือที่ -10 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 3 นาที ต่อมาจะลดเหลือที่ -100 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 2 นาที ครึ่งสุดท้ายจะลดเหลือที่ -140 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 2 นาที รวมเวลาทั้งสิ้น 7 นาที) แล้วนำหลอดน้ำเชื้อเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

ประเมินคุณภาพน้ำเชื้อโดยทันทีหลังจากที่ได้ทำการเจือจางน้ำเชื้อ และประเมินคุณภาพน้ำเชื้อหลังจากแช่แข็ง ที่ 1 ชั่วโมง โดยบันทึกข้อมูลอัตรา การเคลื่อนที่ของอสุจิ และ อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิ ประเมินโดยใช้เครื่อง computer assisted sperm analysis (CASA) และวัดร้อยละของอสุจิตัวเป็น - ตัวตาย โดยวิธีการย้อมสีอสุจิ (eosin-nigrosin staining) ตรวจสอบโดยหยดน้ำเชื้อ 1 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ ผสมด้วยสี อีโอซิน 1 หยด ทิ้งไว้ 30 วินาที หยดสี ในโกรซิน 2 หยด ผสมให้เข้ากัน สเมียร์บนแผ่นสไลด์ เป่าให้แห้งและตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ อสุจิที่มีชีวิตจะไม่ติดสี ส่วนอสุจิที่ตายจะติดสีแดงของสีอีโอซิน ทำการตรวจนับอสุจิจำนวน 200 ตัวต่อ 1 ตัวอย่าง แล้วจึงนำมาคำนวณเทียบเป็นร้อยละของอสุจิตัวเป็น-ตัวตาย ตามวิธีการของ เทวินทร์ และคณะ (2558)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของ การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ โดยวิธี Student's t-test และ ร้อยละของอสุจิตัวเป็น - ตัวตายต่อช่วงเวลาในการเก็บรักษาวิเคราะห์โดยใช้ GLM procedure of SAS (SAS, 2001)

ผลการศึกษา

จากผลการเปรียบเทียบการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris egg yolk) กับสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) ในการแช่แข็งน้ำเชื้อโคต่อคุณภาพตัวอสุจิ ก่อนการแช่แข็งพบว่า การใช้สารเจือจางทั้งสองกลุ่ม มีร้อยละการเคลื่อนที่ และ ร้อยละการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่หลังการแช่แข็ง ร้อยละการเคลื่อนที่ และร้อยละการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) มีร้อยละการเคลื่อนที่ (74.6 ± 1.3) และ ร้อยละการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (65.6 ± 1.6) สูงกว่า สารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris egg yolk) ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Effect of extenders on sperm motility, sperm motile progressive of bovine semen at pre-freezing and post-freezing at 1 hour of storage (means±SD)

Extenders	Pre-freezing (%)		Post-freezing (%)	
	sperm motility	progressive motile sperm	sperm motility	progressive motile sperm
TRIS egg yolk	80.6 ± 1.5 ^a	75.6 ± 1.1 ^a	66.2 ± 1.7 ^b	54.9 ± 2.7 ^b
Continental TM	83.6 ± 0.9 ^a	76.6 ± 0.7 ^a	74.6 ± 1.3 ^a	65.6 ± 1.6 ^a

^{a,b,c} Means±SD within column within parameter followed by the different letter are significantly at P<0.05

ผลของช่วงเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งต่อร้อยละอสุจิตัวเป็นและอสุจิตัวตาย โดยใช้สารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris egg yolk) และสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (ContinentalTM Extender) พบว่า กลุ่มที่ 1 มีร้อยละอสุจิตัวตายในวันที่ 1-3 เท่ากับร้อยละ 27.2 ± 0.9, 33.1 ± 2.6 และ 36.7 ± 3.7 ตามลำดับ และ กลุ่มที่ 2 มีร้อยละอสุจิตัวตายในวันที่ 1-3 เท่ากับร้อยละ 17.9 ± 1.9, 25.2 ± 0.9 และ 26.3 ± 0.9 ตามลำดับ ส่วนร้อยละอสุจิตัวเป็นพบในกลุ่มที่ 1 มีร้อยละอสุจิตัวเป็นในวันที่ 1-3 เท่ากับร้อยละ 72.8 ± 0.9, 66.9 ± 2.6 และ 63.3 ± 3.7 ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 มีร้อยละอสุจิตัวเป็นในวันที่ 1-3 เท่ากับร้อยละ 82.1 ± 1.9, 74.8 ± 0.9 และ 68.7 ± 0.9 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ากลุ่มที่ 2 มีแนวโน้มของร้อยละอสุจิตัวเป็นมากกว่ากลุ่มที่ 1 แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบแนวโน้มของอสุจิตัวตายในวันที่ 2 และ 3 ของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงใน Table 2

วิจารณ์

จากการศึกษาพบว่าสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (ContinentalTM Extender) ที่ใช้ทดลองผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง มีความสะดวกในการเตรียมสารเจือจาง เมื่อประเมินการเคลื่อนที่และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าก่อนการแช่แข็ง โดยการใช้เครื่อง computer assisted sperm analysis (CASA) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องมาจากน้ำเชื้อทั้งสองกลุ่มยังไม่มีการเปลี่ยนอุณหภูมิ แต่ภายหลังแช่แข็งพบว่าอสุจิมีการเคลื่อนที่และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ในกลุ่มของสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (ContinentalTM Extender) ให้ผลดีกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris-egg yolk) และการวัดร้อยละของอสุจิตัวเป็น - ตัวตาย โดยวิธีการย้อมสีอสุจิ แสดงให้เห็นว่ากลุ่มที่ 2 มีแนวโน้มของร้อยละอสุจิตัวเป็นมากกว่ากลุ่มที่ 1 แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบแนวโน้มของอสุจิตัวตายในวันที่ 2

Table 2 Effect of extenders on dead and live sperm of frozen bovine semen at 1, 2 and 3 days of storage

Extenders	Dead sperm (%)			Live sperm (%)		
	Day 1	Day 2	Day 3	Day 1	Day 2	Day 3
TRIS egg yolk	27.2 ± 0.9 ^b	33.1 ± 2.6 ^a	36.7 ± 3.7 ^a	72.8 ± 0.9 ^a	66.9 ± 2.6 ^b	63.3 ± 3.7 ^b
Continental TM	17.9 ± 1.9 ^b	25.2 ± 0.9 ^a	26.3 ± 0.9 ^a	82.1 ± 1.9 ^a	74.8 ± 0.9 ^b	68.7 ± 0.9 ^c

^{a,b,c} Means±SD within row within parameter followed by the different letter are significantly at P<0.05

และ 3 ของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งได้มีการศึกษาของ Rota and Linde-Forsberg (1995) ที่ใช้สารเจือจาง (Tris egg yolk) ครีม-ไข่แดง (egg yolk cream) และ นม ไข่แดง (egg yolk milk) ในการเก็บรักษาเซลล์อสุจิที่ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสารเจือจาง (Tris egg yolk) มีร้อยละการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงขึ้นหลังการเก็บรักษาสูงกว่าสูตรอื่น เนื่องจากน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่ดีต้องสามารถคงสภาพอสุจิระหว่างการทำการบวมนการแช่แข็งน้ำเชื้อ ป้องกันอสุจิไม่ได้รับความเสียหายจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และยังเป็นแหล่งพลังงานในการเคลื่อนที่ของอสุจิ การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิ การมีชีวิตรอดของอสุจิและสามารถให้อัตราการผสมติดที่สูง (Vidal et al., 2013) แม้ว่าสารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris-egg yolk) จะเป็นสารเจือจางที่ใช้โดยทั่วไป และให้ผลดีในระดับหนึ่ง แต่ในปัจจุบันได้มีสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้าหลายชนิดที่พัฒนามาจากสูตรพื้นฐาน เพื่อลดขั้นตอนในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง ซึ่งมีการศึกษาของจิรัฐติ และคณะ (2561) โดยใช้สารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า AndroMed® เปรียบเทียบกับสารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris-egg yolk) ในการแช่แข็งน้ำเชื้อแพะ สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรการค้ามีการเคลื่อนที่ดีกว่าสูตรพื้นฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และจากการศึกษาของ นิตยา และ วิวัฒน์ (2558) ใช้สารเจือจางน้ำเชื้อกับสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (MJ-EX2™ Extender) เปรียบเทียบกับการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris-egg yolk) ในการแช่แข็งน้ำเชื้อแพะ พบว่าอัตราการมีชีวิตรอดของสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (MJ-EX2™ Extender) มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris-egg yolk) (ร้อยละ 49.36 ± 2.01 และ 29.12 ± 1.82) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) จากการศึกษาได้ใช้สารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) ประกอบด้วยทริส ร้อยละ 2.42 กรดซิตริก ร้อยละ 1.38 น้ำตาลฟรุกโตส ร้อยละ 1.0 กลีเซอรอล ร้อยละ 7 และ ยาปฏิชีวนะ (ไทโลซิน 5.50 มิลลิกรัม เจนตามัยซิน 27.50 มิลลิกรัม ลินโคสเปคติน 16.50 มิลลิกรัม สเปคตินิน 33.0 มิลลิกรัม) ซึ่งเป็นสูตรที่พัฒนามาจากสูตรพื้นฐาน และจากการศึกษาทำให้ทราบว่าสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) เป็นสารเจือจางที่ช่วยให้อสุจิมีคุณภาพดีขึ้นเมื่อเปรียบ

เทียบกับสารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris-egg yolk) แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพื่อพัฒนาสารเจือจางน้ำเชื้อให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น และสามารถประยุกต์ใช้ในฟาร์มของเกษตรกร และหน่วยงานต่างๆได้ต่อไป

สรุป

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารเจือจางน้ำเชื้อทางการค้า (Continental™ Extender) มีความเป็นไปได้ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็ง อสุจิมีการเคลื่อนที่ การเคลื่อนที่ไปหน้า และมีแนวโน้มการรอดชีวิตสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris-egg yolk) เป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาเทคนิคการรักษาคุณภาพน้ำเชื้อเพื่อให้ได้ผลที่ดีขึ้น สามารถลดขั้นตอนในการเตรียมสารละลาย และมีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา (ทุนสนับสนุนการวิจัยลงสู่สาขา หมายเลขโครงการ 620015083) มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัย ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งฟอพันธุ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สำหรับอุปกรณ์และสถานที่ในการทำงานวิจัย ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาสัตวศาสตร์ และห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย สำหรับสารเคมีในการวิเคราะห์ตัวอย่าง และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ที่สนับสนุนงบประมาณสำหรับการนำเสนองานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จิรัฐติ ธรรมศิริ ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์ สมจิตร์ กันธพรหม และจารึก ภูมิฐานกรกุล. ผลของสารเจือจางน้ำเชื้อ และเวลาในการเก็บรักษาต่อคุณภาพอสุจิของน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็งแพะ. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 35(2) (พิเศษ 2): 772-780.

- เทวินทร์ วงษ์พระลับ พัทธรา ธนานุรักษ์ นริศรา สวयरูป ชมัยพร สิทธิเกษมกิจ และ พิรวิทย์ เชื้อวงศ์บุญ. 2558. ผลของไข่แดงจากสัตว์ปีกต่างชนิดต่อคุณภาพน้ำเชื้อของสุกรที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 °C. วารสารแก๊นเกษตร 43 (พิเศษ1): 195-201.
- นิตยา ทองทิพย์ และ วิวัฒน์ พัฒนาวงค์. 2558. การเปรียบเทียบการใช้สารละลายเจี๊ยงน้ำเชื้อพื้นฐาน (Tris-egg yolk) กับสารละลายเจี๊ยงน้ำเชื้อทางการค้า (MJ-EX2™ Extender) ในการแช่แข็งน้ำเชื้อแพะต่อคุณภาพตัวอสุจิภายหลังการแช่แข็ง. น. 829-834. ใน: การประชุมทางวิชาการพะเยา ครั้งที่ 4 29-30 มกราคม 2558. มหาวิทยาลัยพะเยา.
- Crespilho, A.M., M.F. Sa´ Filho, J.A. Dell'Aqua Jr, M. Nichi, G.A. Monteiro, B.R. Avanzi, A. Martins and F.O. Papa. 2012. Comparison of in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or new lecithin based extenders. *Livestock Science* 149(1-2): 1-6.
- Nunes, J. F. and C. C. M. Salgueiro. 2011. Strategies to improve reproductive efficiency of goats in Brazil. *Small Rum. Res.* 98: 176-184.
- Rota A., B. Strom and C. Linde-Forberg. 1995. Effect of seminal plasma and three extenders on canine semen stored at 4 °C. *Theriogenology* 44: 885-900.
- SAS. 2001. SAS System (Release 8.2). SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Vidal A. H., A. M. Batista, E. C. B. Silva, W. A. Gomes, M. A. Pelinca, S. V. Silva and M. M. P. Guerra. 2013. Soybean lecithin-based extender as an alternative for goat sperm cryopreservation. *Small Rum. Res.* 109: 47-51.