

# การเสริมแอล-คาร์นิทีน ในน้ำยาเจือจางชนิดเก็บรักษาระยะสั้น เพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อสุกรที่เก็บรักษาด้วยวิธีแช่เย็น

## Supplementation of a short term extender with L-carnitine for improving boar semen quality after cooled storage

พัชรา ธานนุรักษ์<sup>1</sup>, ชัยพร สิทธิเกษมกิจ<sup>1</sup>, แสนน้ำผึ้ง สมท้าว<sup>1</sup>, นลินี ทับทิมทอง<sup>1</sup>  
และ เทวินทร์ วงษ์พระลับ<sup>1,2\*</sup>

Pachara Thananurak<sup>1</sup>, Chamaiporn Sittikasamkit<sup>1</sup>, Saennamphung Somtaw<sup>1</sup>,  
Nalinee Tubtimtong<sup>1</sup> and Thevin Vongpralub<sup>1\*</sup>

**บทคัดย่อ:** การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมแอล-คาร์นิทีน ลงในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อต่ออัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิตรอด อสุจิที่มีอะโครโซมสมบูรณ์ และไม่โตคอนเดรียสภาพปกติ ใช้น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์จำนวนรวม 12 ตัว แบ่งน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์แต่ละตัว ออกเป็น 4 ส่วน เจือจางด้วยน้ำยา BTS ที่เสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 0, 1, 5 และ 10 มล. ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 17 °ซ เป็นเวลา 5 วัน ประเมินอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิตรอด อสุจิที่มีอะโครโซมสมบูรณ์ และไม่โตคอนเดรียสภาพปกติ พบว่าการเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 5 และ 10 มล. ให้ผลดีต่อการเคลื่อนที่ อสุจิมีชีวิต ความสมบูรณ์ของอะโครโซม และไม่โตคอนเดรียสภาพปกติ ภายหลังการเก็บรักษาสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ( $P < 0.05$ ) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การเสริมแอล-คาร์นิทีน ระดับ 5 และ 10 มล. สามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำยาเจือจางชนิดเก็บรักษาระยะสั้น เพื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อสุกรแบบแช่เย็นให้มีคุณภาพได้

**คำสำคัญ:** น้ำเชื้อสุกร, การเก็บรักษาแบบแช่เย็น, แอล-คาร์นิทีน, น้ำยาเจือจาง BTS

**ABSTRACT:** The experiment was conducted to determine the efficacy of L - carnitine on the sperm viability, sperm motility, the percentage of live sperm with normal apical ridge and high mitochondrial energy status of cooled boar semen during storage as parameter of semen quality. Semen samples from each of the twelve boar were divided into 4 aliquots and were diluted with BTS extender supplemented with different concentration of L - carnitine (0, 1, 5 and 10 mM) and cooled at 17 °C for 5 days. Then, evaluated sperm viability, sperm motility, percentage of live sperm with normal apical ridge and high mitochondrial energy status. The results of the experiment showed that L - carnitine at concentration of 5 and 10 mM increased the motility, live sperm with normal apical ridge and high mitochondrial energy status at day 3 and 5 of storage ( $P < 0.05$ ). The results indicated that the addition of 5 and 10 mM L - carnitine can improved as a component of boar short-term semen extender.

**Keywords:** boar semen, Cooled storage, L-carnitine, BTS

<sup>1</sup> ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon kaen University

<sup>2</sup> ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่นจังหวัดขอนแก่น 40002

Research and development network center for animal breeding (Native chicken), Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

\* Corresponding author: vthevi@kku.ac.th

## บทนำ

ปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีการผสมเทียมสุกรอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร โดยเฉพาะในประเทศที่พัฒนาแล้ว และจำนวนแม่สุกรที่ใช้วิธีผสมเทียมเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ (Riesenbeek, 2011) โดยใช้น้ำเชื้อที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 - 20 °ซ และใช้น้ำเชื้อในวันแรกหรือวันต่อมาภายหลังการรีด ซึ่งน้ำยาที่ให้เป็นประเภท short - term (Johnson et al., 2000) เป็นน้ำยาเจือจางที่มีราคาถูก สามารถเก็บรักษาได้ 2-3 วัน ในขณะที่น้ำยาเจือจางประเภท long - term เป็นประเภทที่มีองค์ประกอบซับซ้อน มักจะใช้ในกรณีที่แหล่งน้ำเชื้ออยู่ห่างไกลจากฟาร์มแม่พันธุ์ ต้องมีการขนส่งและอาจใช้เวลานาน อย่างไรก็ตามในการเก็บรักษาน้ำเชื้อนั้น น้ำเชื้อจะเกิดการเสื่อมสภาพ (Gadea, 2003) เนื่องจากองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์สุจิประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณมากจึงเป็นสาเหตุให้ไวต่อความเสื่อมจากสารอนุมูลอิสระ (Awda et al., 2009) มีการศึกษาการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อของสัตว์ชนิดต่างๆ และพบว่าให้ผลดี สามารถช่วยลดการเกิดสารอนุมูลอิสระ และช่วยปรับปรุงคุณภาพของสุจิได้ (Zhang et al., 2012) ในสุกรพบว่า สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้ผลดีในน้ำเชื้อแช่เย็นและน้ำเชื้อแบบแช่แข็งได้แก่ vitamin E (Pena et al., 2003), glutathione (Funahashi and Sano, 2005), Cysteine (Szczeniak-Falanczyk et al., 2011) และมีรายงานการวิจัยที่ชี้ให้เห็นถึงผลดีของการเสริมแอล-คาร์นิทีนที่ระดับ 0.5, 1 และ 2 มลม. ในน้ำเชื้อกระต่ายที่เก็บรักษาในสภาพเหลว (Sariozken et al., 2014) และมีผลดีต่อน้ำเชื้อแบบแช่แข็งที่ได้จากท่อพักเก็บน้ำเชื้อของแมวที่ระดับ 25 มลม. (Manee-in et al., 2014) ซึ่งแอล-คาร์นิทีน มีคุณสมบัติเป็นโคแฟกเตอร์ทำงานร่วมกับกรดไขมันสายยาวของกรดไขมันที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์สุจิจะไปเสริมการทำงานของไมโทคอนเดรีย ทำให้มีการเคลื่อนที่เพิ่มสูงขึ้น (Lenzi et al., 2003) จากการสำรวจข้อมูลการศึกษาถึงผลการเสริมแอล-คาร์นิทีน ในน้ำยาเจือจางชนิดเก็บ

รักษาระยะสั้น ยังไม่พบรายงานในสุกร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงผลของการเสริมแอล-คาร์นิทีนต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรภายหลังการเก็บรักษาด้วยน้ำยาเจือจางชนิดเก็บรักษาระยะสั้น

## วิธีการศึกษา

### สัตว์ทดลอง

พ่อสุกรสายพันธุ์ทางการค้าที่เลี้ยงในโรงเรือนระบบปิด ของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกร บริษัท เบทาโกร จำกัด อ. กระนวน จ. ขอนแก่น ที่ได้รับรองมาตรฐานฟาร์มเลขที่ กษ 0222 06403 40090203 000 จากกรมปศุสัตว์

พ่อสุกรสายพันธุ์ทางการค้าจำนวน 12 ตัว รีดน้ำเชื้อสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ทำการเจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่มีการเสริมทำการเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 0, 1, 5 และ 10 มลม.

### การรีดน้ำเชื้อ

การรีดเก็บน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรใช้วิธีบีบนิ้วปลายอวัยวะสืบพันธุ์ของพ่อสุกร (Glove hand method) ทำการรีดเก็บทุกส่วนของน้ำเชื้อ (total semen) ความถี่ของการรีดสัปดาห์ละ 2 ครั้ง นำน้ำเชื้อที่ได้มาตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อในห้องปฏิบัติการ วัดปริมาณน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้จากการใช้ถุงพลาสติกเป็นภาชนะรองรับน้ำเชื้อไปชั่งด้วยเครื่องชั่งดิจิตอลแล้วหักน้ำหนักรองถุงพลาสติกออก จากนั้นคำนวณหาปริมาณของน้ำเชื้อแท้จริง วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) วัดระดับความเข้มข้นของตัวสุจิในน้ำเชื้อ (concentration) โดยการใช้เครื่องวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อโดยใช้โปรแกรมตรวจนับ Motility Concentration CASA dynamic swine sperm โดยกล้องรุ่น Optika

### การเตรียมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ

น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสูตร Beltsville Thawing Solution (BTS) ประกอบด้วย glucose 37 g., tri-so-

dium citrate 6.0 g., sodium hydrogen carbonate 1.25 g., EDTA disodium salt 1.25 g., potassium chloride 0.75 g., penicillin 0.6 g., streptomycin 1.0 g. เจือจางในน้ำกลั่นสองครั้ง ให้ได้ปริมาณ 1,000 มล. ตามวิธีการของ Pursel and Johnson (1975)

### การเตรียมน้ำเชื้อสดและการเก็บรักษาน้ำเชื้อ

น้ำเชื้อสดที่ผ่านการตรวจคุณภาพในห้องปฏิบัติการแล้วมีคุณภาพดี นำน้ำเชื้อสุกรแต่ละตัวมาแบ่งเป็นกลุ่มเพื่อนำมาเจือจางกับน้ำยาเจือจางที่มีการเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 0, 1, 5 และ 10 มล. ในอัตราส่วน 1 : 5 แล้วทำการแบ่งน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วอีกครั้งหนึ่ง ลงในหลอด microtube ขนาด 5 มล. ปริมาณหลอดละ 3 มล. จำนวน 3 ชุด เพื่อใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ ทำการเก็บรักษาหลอดน้ำเชื้อในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 17 °ซ เป็นเวลา 5 วัน

### การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

นำหลอดตัวอย่างน้ำเชื้อออกจากตู้เย็นมาพักไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที แล้วทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสุกรดังต่อไปนี้ ประเมินความแรงของการเคลื่อนที่ (vigor score) กำหนดเป็นคะแนน 1 - 5 และอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าอสุจิ (progressive motile) ซึ่งทำการอุณหสไลด์ที่ 37 °ซ ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดตัดแสง การประเมินคุณภาพอสุจิโดยตรวจสอบความเสียหายของอะโครโซม โดยการย้อมสี fluorescein isothiocyanate- labeled peanut (*Arachis hypogaeal*) agglutinin FITC-PNA staining (Sigma, L7381) ร่วมกับ Propidium Iodide (PI) และการทำงานของไมโทคอนเดรียย้อมสี 5,5',-tetrachloro-1,1',3,3' tetraethylbenzimidazolyl-carbocyanine iodide (JC - 1) (Sigma, C50390) ร่วมกับ Propidium Iodide (PI) (Sigma, 28, 707 - 5) จากนั้นทำการส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดเรืองแสง (fluorescence microscope; Inverted Microscope with Micromanipulator Olympus IX71) ที่กำลังขยาย 400 เท่า นับจำนวนอสุจิจำนวนทั้งหมด 300 ตัว นำมา

คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ ตามวิธีการของ Andrade et al. (2007) ทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสุกรในวันที่ 1, 3 และ 5 ของการเก็บรักษา

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Random completely block design) ทำการแปลงข้อมูลโดยใช้ arcsin วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan new multiple Range Test (DMRT)

### ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผลการเสริม L - carnitine ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสุกร BTS ต่อความแรงของการเคลื่อนที่ การเคลื่อนที่ทั้งหมด การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า อัตราการมีชีวิตและสภาพสมบูรณ์ ความเสียหายของอะโครโซม และการทำงานของไมโทคอนเดรีย ของน้ำเชื้อสุกร ที่ทำการเก็บรักษาด้วยวิธีแช่เย็นในวันที่ 1, 3 และ 5 จากตัวอย่างน้ำเชื้อสุกร 12 ตัว ที่มีความเข้มข้นเฉลี่ย  $342 \times 10^6$  ตัว/มล. pH เท่ากับ 7.6 และมีปริมาตรน้ำเชื้อที่รีดได้ต่อครั้งต่อตัวเฉลี่ยที่ 252 มล.

ผลการประเมินการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อสุกรที่เสริมแอล-คาร์นิทีน ในน้ำยาเจือจางและเก็บรักษาโดยวิธีการแช่เย็น พบว่า ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา ความแรงของการเคลื่อนที่ การเคลื่อนที่ทั้งหมด และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิสุกร ไม่มีความแตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) แต่พบว่าในวันที่ 3 และ 5 ของการเก็บรักษา การเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 5 และ 10 มล. ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ มีผลทำให้ความแรงของการเคลื่อนที่ การเคลื่อนที่ทั้งหมด และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า สูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 1 มล. ( $P < 0.05$ ) ดังแสดงใน Table 1

ผลการประเมินคุณภาพอสุจิด้วยการย้อมสี fluorescent ดังแสดงใน Figure 1 และ Table 2 พบว่าในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา การเสริมแอล-คาร์นิทีน ไม่มี

ผลต่อเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่สมบูรณ์ ความเสียหายของอะโครโซมและการทำงานของไมโทคอนเดรีย ( $P > 0.05$ ) คุณภาพอสุจิสุกรในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาพบว่าการเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 10 มลม. มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่สมบูรณ์สูงกว่ากลุ่มควบคุม และมีเปอร์เซ็นต์อสุจิไม่มีชีวิต อะโครโซมเสียหาย และประสิทธิภาพการทำงานของไมโทคอนเดรียที่ต่ำน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่เสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 1 และ 5 มลม. ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา การเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 10 มลม. มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิตสูง และมีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่ไม่มีชีวิต อะโครโซมเสียหาย ประสิทธิภาพการทำงานของไมโทคอนเดรียต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างกับการเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 1 และ 5 มลม.

แอล-คาร์นิทีน ทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์จะไปทำงานร่วมกับกรดไขมันสายยาวภายในกรดไขมัน ซึ่ง

จะไปเสริมการทำงานของไมโทคอนเดรีย และช่วยให้การเคลื่อนที่ของหางอสุจิเพิ่มสูงขึ้น (Mayers, 2000; Lenzi et al., 2003) จากรายงานที่ผ่านมาพบว่าแอล-คาร์นิทีน ช่วยปรับปรุงการเคลื่อนที่อสุจิแมวจากอพิติโดมิส และผ่านการเก็บรักษาด้วยวิธีแช่แข็งได้ (Manee-in et al., 2014) และการเสริมแอล-คาร์นิทีน ที่ระดับ 0.5-2 มลม. สามารถเพิ่มอัตราการเคลื่อนที่ และลดความเสียหายของอะโครโซมของอสุจิกระต่ายที่เก็บรักษาในสภาพเหลวได้ (Sariozkan et al., 2014) และการรายงานของ Newsletter (2000) พบว่าแอล-คาร์นิทีน ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของอสุจิ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Vicari and Calogero (2001) ที่พบว่าแอล-คาร์นิทีน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถลดการเกิดสารอนุมูลอิสระ ส่งผลให้การเคลื่อนที่และอัตราการรอดชีวิตของอสุจิมนุษย์เพิ่มสูงขึ้น

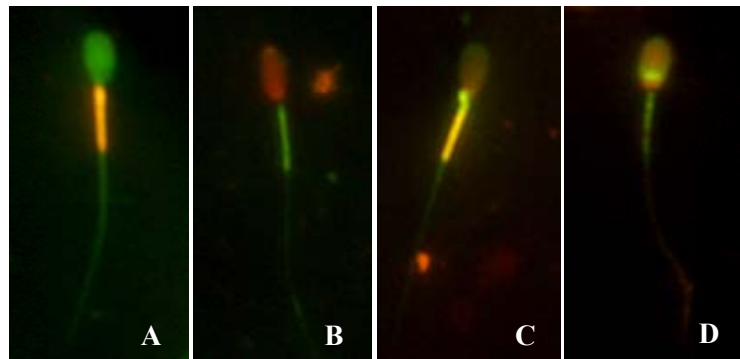


Figure 1 Epifluorescence photomicrography of boar spermatozoa stained with the association of fluorescent probes, PI, FITC-PNA, and JC-1 (400x magnification).

- A. Intact plasmatic and acrosomal membranes with high mitochondrial membrane potential.
- B. Damaged plasmatic membrane, intact acrosome with low mitochondrial membrane potential.
- C. Damaged plasmatic and acrosomal membranes with high mitochondrial membrane potential.
- D. Damaged plasmatic and acrosomal membranes with low mitochondrial membrane potential.

**Table 1** Mean (±SD) values of vigor score, motility, progressive motile in diluted boar semen supplemented with different concentrations of carnitine at different time points at 17 °C (n=12)

| Time points (Day) |  | 1                    |                 |                           |                        | 3                        |                           |                        |                          | 5                      |                          |                           |  |
|-------------------|--|----------------------|-----------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------|--|
| Groups            |  | Vigor score<br>(0-5) | Motility<br>(%) | Progressive<br>motile (%) | Vigor score<br>(0-5)   | Motility<br>(%)          | Progressive<br>motile (%) | Vigor score<br>(0-5)   | Motility<br>(%)          | Vigor score<br>(0-5)   | Motility<br>(%)          | Progressive<br>motile (%) |  |
| n                 |  | 12                   | 12              | 12                        | 12                     | 12                       | 12                        | 12                     | 12                       | 12                     | 12                       | 12                        |  |
| Control           |  | 4.23±0.33            | 81.50±6.59      | 73.50±8.40                | 2.61±0.57 <sup>b</sup> | 58.16±14.07 <sup>b</sup> | 45.00±7.37 <sup>bc</sup>  | 1.50±0.66 <sup>b</sup> | 45.05±13.96 <sup>b</sup> | 1.50±0.66 <sup>b</sup> | 45.05±13.96 <sup>b</sup> | 35.33±5.31 <sup>b</sup>   |  |
| Carnitine 1 mM    |  | 4.21±0.32            | 80.66±6.71      | 76.00±5.13                | 2.70±0.66 <sup>b</sup> | 60.00±16.21 <sup>b</sup> | 48.16±6.24 <sup>b</sup>   | 1.71±0.57 <sup>b</sup> | 47.83±11.51 <sup>b</sup> | 1.71±0.57 <sup>b</sup> | 47.83±11.51 <sup>b</sup> | 37.83±6.30 <sup>b</sup>   |  |
| Carnitine 5 mM    |  | 4.21±0.24            | 84.50±7.60      | 76.66±7.22                | 3.36±0.41 <sup>a</sup> | 68.16±12.01 <sup>a</sup> | 52.83±4.91 <sup>a</sup>   | 2.06±0.32 <sup>a</sup> | 52.68±11.92 <sup>a</sup> | 2.06±0.32 <sup>a</sup> | 52.68±11.92 <sup>a</sup> | 44.00±4.69 <sup>a</sup>   |  |
| Carnitine 10 mM   |  | 4.01±0.36            | 82.16±6.99      | 75.00±9.67                | 3.33±0.38 <sup>a</sup> | 67.16±11.03 <sup>a</sup> | 52.00±4.00 <sup>a</sup>   | 2.16±0.30 <sup>a</sup> | 55.00±13.60 <sup>a</sup> | 2.16±0.30 <sup>a</sup> | 55.00±13.60 <sup>a</sup> | 43.00±4.47 <sup>a</sup>   |  |

Different letters <sup>(a-b)</sup> within columns indicate significant differences (P < 0.05)

**Table 2** Mean (±SD) values of epifluorescence photomicrography stained in diluted boar semen supplemented with different concentrations of carnitine at different time points at 17 °C (n=12)

| Time points     |  | 1                 |            |            |             | 3                       |                          |                          |                         | 5                       |                          |                          |                         |
|-----------------|--|-------------------|------------|------------|-------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Treatments      |  | Carnitine (mM/mL) |            |            |             | Carnitine (mM/mL)       |                          |                          |                         | Carnitine (mM/mL)       |                          |                          |                         |
| Groups          |  | 0                 | 1          | 5          | 10          | 0                       | 1                        | 5                        | 10                      | 0                       | 1                        | 5                        | 10                      |
| PI- PNA- JC-1 + |  | 84.33±4.42        | 83.11±2.26 | 84.71±7.87 | 82.51±10.25 | 74.70±6.12 <sup>b</sup> | 76.54±5.54 <sup>ab</sup> | 76.46±3.74 <sup>ab</sup> | 78.82±5.23 <sup>a</sup> | 64.63±7.93 <sup>c</sup> | 69.54±7.87 <sup>b</sup>  | 73.81±6.98 <sup>ab</sup> | 75.37±6.13 <sup>a</sup> |
| PI+ PNA- JC-1 - |  | 1.37±1.27         | 2.95±2.10  | 3.37±1.55  | 2.34±3.15   | 2.71±0.52               | 2.50±1.18                | 2.82±1.08                | 2.80±0.71               | 6.99±0.51               | 5.58±2.31                | 5.00±1.98                | 6.52±3.08               |
| PI+ PNA+ JC-1 + |  | 6.59±2.66         | 5.20±5.91  | 4.64±3.21  | 6.65±2.83   | 9.59±4.73               | 8.84±2.91                | 7.80±1.43                | 7.69±2.36               | 13.15±5.77 <sup>a</sup> | 10.94±3.77 <sup>b</sup>  | 9.01±1.19 <sup>b</sup>   | 8.56±0.74 <sup>b</sup>  |
| PI+ PNA- JC-1 - |  | 7.71±4.45         | 8.74±4.12  | 7.28±6.78  | 8.68±4.47   | 13.00±4.02 <sup>a</sup> | 12.01±2.60 <sup>ab</sup> | 12.92±3.05 <sup>ab</sup> | 10.69±2.81 <sup>b</sup> | 15.23±6.99 <sup>a</sup> | 13.94±8.12 <sup>ab</sup> | 12.18±5.41 <sup>ab</sup> | 9.55±6.20 <sup>b</sup>  |

PI- PNA- JC-1 +; Intact plasmatic and acrosomal membranes with high mitochondrial membrane potential

PI+ PNA- JC-1 +; Damaged plasmatic membrane, intact acrosome with low mitochondrial membrane potential

PI+ PNA+ JC-1 +; Damaged plasmatic and acrosomal membranes with high mitochondrial membrane potential

PI+ PNA- JC-1 -; Damaged plasmatic and acrosomal membranes with low mitochondrial membrane potential

Different letters <sup>(a-b)</sup> within rows indicate significant differences (P < 0.05)

## สรุป

การเสริมแอล-คาร์นิทีน ในน้ำยาเจือจางชนิดเก็บรักษาระยะสั้น (BTS) ที่ระดับ 5 และ 10 มลม. ให้ผลดีในการเก็บรักษา สามารถช่วยเพิ่มอัตราการเคลื่อนที่และอัตราการรอดชีวิตของอสุจิสุกรได้ การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการนำไปผสมเทียมกับสุกรโดยตรง

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกร บริษัทเบทาโกร จำกัด อ.กระนวน จ.ขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างน้ำเชื้อสุกร ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี และห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

- Andrade, A.F.C., R.P. Arruda, E.C.C. Celeghini, J. Nascimento, S.M.M.K. Martins, C.F. Rephael, and A.S. Moretti. 2007. Fluorescent stain method for the simultaneous determination of mitochondrial potential and integrity of plasma and acrosome membranes in boar sperm. *Reprod. Dom. Anim.* 42: 190-194.
- Awda, G. J., B. M. Mackenize, and M. M. Buhr. 2009. Reactive oxygen species and boar sperm function. *Biol. Reprod.* 81: 553-561.
- Funahashi, H., and Sono. 2005. Select antioxidant improve the function of extended boar semen stored at 10 degrees C. *Theriogenology.* 63: 1605-1616.
- Gadea, J. 2003. Semen extenders used in artificial insemination of swine. *J. Agri. Res.* 1: 17-27.
- Johnson, L. A., K. F. Weitz, P. Fisher, and W. M. C. Maxwell. 2000. Storage of boar semen. *Anim. Reprod Sci.* 62: 143-172.
- Lenzi, A., F. Lombardo, P. Sgro, P. Salaccone, L. Caponecchia, F. Dondero, and L. Gandini. 2003. Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: A double-blind crossover trial. *Fertil. Steril.* 79: 292-300.
- Manee-in, S., S. Parmornsupornvicht, S. Kraiprayoon, T. Tharasanit, P. Chanpiwat, and K. Kaeoket. 2014. L- carnitein supremmented extender improves cryo-preserved-thawed at epididymal sperm motility. *Asian australas J. Anim Sci.* 27: 791-796.
- Mayes, P.A., 2000. Lipids of physiologic significance. In: R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes and V.W. Rodwell, (eds). *Harper's Biochemistry.* 25 Edition, Appleton and Lange.
- Newsletter, A.S., 2000. Akey's field trial experience with L-carnitine supplementation of boar diets. Akey Inc. Lewisburg, OH.
- Pena, F. J., A. Johannisson, M. Wallgren, and M. H. Rodriguez. 2003. Antioxidant supplementation in vitro improve boar sperm motility and mitochondrial membrane peteital after cryopreservation of different fruition the ejaculate. *Anim. Reprod. Sci.* 78: 85-98.
- Riesenbeek, A. 2011. Review on international trade with boar semen. *Reprod. Dom. Anim.* 46(Suppl. 2): 1-3.
- Sariozkan, S., S. Ozdamar, G. Turk, F. Canturk, and A. Yay. 2014. In vitro effect of L- carnitine and glutamine on motility, acrosomal abnormality and plasma membrane integrity of rabbit sperm during liquid- storage. *Cryobiology* 68:349-353.
- Szczesniak- Fabianczyk, B., M. Bochenek, Z. Smorag, and M. A. Silvestre. 2003. Effects of antioxidants added to boar semen extender on the semen survival and sperm chromatin structure. *Reprod. Biol.* 3: 81-87.
- Vicari, E. and A. E. Calogero. 2001. Effects of treatment with carnitine in infertile patients with prostate-vesiculo-epididymis. *Hum. Reprod.* 16: 2338-2342.
- Zhang, W., K. Yi, C. Chen, X. Hou, and X. Zhou. 2012. Application of antioxidant and centrifugation for cryo-preservation of boar spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 132: 123-128.