

การประเมินชนิดของไข่แดงที่แตกต่างกันในสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ ต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งโค

Evaluation of different egg yolk in semen extender on frozen semen quality in bull

เพชรสมร วรสาร^{1,2}, สมจิตร กันธาพรหม¹ และ จิรัฏฐิ ธรรมศิริ^{1*}

Phetsamone Vorasane^{1, 2}, Somchit Guntaprom¹ and Jiratti Thammasiri^{1*}

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของไข่แดงที่แตกต่างกันในสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งโคภายหลังการทำละลาย ใช้น้ำเชื้อจากโคบราห์มันอายุ 5 ปี (รีดเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ละครั้ง) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามชนิดของไข่แดงที่ใช้ในสูตรน้ำยาเจือจางได้แก่ กลุ่มที่ 1 (ไข่แดงของไข่ไก่) กลุ่มที่ 2 (ไข่แดงของไข่เป็ด) และกลุ่มที่ 3 (ไข่แดงของไข่นกกระทา) ทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังทำละลาย ผลการศึกษาในกลุ่มที่ใช้ไข่แดงเป็ดระดับ 20% ในสูตรน้ำยาเจือจางพบว่าส่งผลให้ร้อยละการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงที่สุด ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบการใช้ไข่แดงของนกกระทา และไข่แดงของไก่ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบความสอดคล้องของผลการทดลองที่มีต่อวิถีเคลื่อนที่ของอสุจิ ลักษณะและค่าสัมประสิทธิ์การเคลื่อนที่ ความยาวและพื้นที่ส่วนหัวของอสุจิ ค่าร้อยละของอสุจิที่มีชีวิต และความสมบูรณ์ของอะโครโซมพบว่ากลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไข่ไก่ และไข่เป็ดที่ระดับ 20% มีค่ามากกว่าในกลุ่มที่เสริมด้วยไข่นกกระทาอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ผลของการใช้ไข่แดงเป็ด 20% ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในโคหลังทำละลายมากที่สุดเมื่อพิจารณาจากผลต่อการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า อสุจิที่มีชีวิตและความสมบูรณ์ของอะโครโซม รองลงมาคือไข่แดงของไข่ไก่ และไข่นกกระทา

คำสำคัญ: ไข่แดง, คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง, น้ำยาเจือจาง, โค

ABSTRACT: The aim of the present study was to study the effects of egg yolks of chicken, duck and quail supplemented in extender on frozen semen qualities of bull. The semen was collected from 5-year-old American Brahman bull breeders (once a week). The semen was divided into 3 groups of egg yolk diluted in extender containing either chicken, duck and quail egg yolk. The percentages of progressive motility in semen extender used duck egg yolk was greater ($P<0.05$) than chicken and quail egg yolks respectively. However, no consistent with motile parameters, motile velocity, elongation and area of sperm was observed. The percentages of sperm viability and acrosomal integrity in semen extender used both chicken and duck egg yolks were greater ($P<0.05$) than quail. The used of 20 % duck egg yolk was greater on semen quality according to the percentage of progressive motility, percentage of viability and acrosomal integrity.

Keywords: Egg yolk, Semen quality, Extender, Bulls

¹ สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ 46000
Department of Animal Production Technology, Faculty of Agro-Industrial Technology, Kalasin University,
Kalasin 46000, Thailand

² แผนกเลี้ยงสัตว์และการประมงสัตว์น้ำเขต แผนกกสิกรรมและป่าไม้สะหวันนะเขต จังหวัดสะหวันนะเขต สาธารณรัฐ
ประชาธิปไตยประชาชนลาว (สปป. ลาว)
Savannakhet Provincial Livestock and Fisheries Section, Savannakhet Provincial Department of Agriculture
and Forestry, LAO PDR

* Corresponding author: jiratti.th@gmail.com

บทนำ

การผสมเทียมโคในปัจจุบันนิยมทำการผสมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งเพราะสะดวกในการขนส่งและเก็บรักษาสามารถนำน้ำเชื้อไปทำการผสมเทียมได้ทุกแห่งตลอดน้ำเชื้อจะเป็นหลอดขนาดเล็ก ปริมาตร 0.25 และ 0.5 มล. มีตัวอสุจิในหลอดประมาณ 20-30 ล้านตัว โดยหลังจากละลายน้ำเชื้อแล้วจะมีอสุจิที่ยังมีชีวิตไม่น้อยกว่า 40 % หรือประมาณ 8-12 ล้านตัว ซึ่งมากพอที่จะเดินทางไปปฏิสนธิกับไข่ของเพศเมียได้ น้ำเชื้อแช่แข็งจะเก็บรักษาโดยแช่ในไนโตรเจนเหลว

ไข่แดงเป็นส่วนประกอบของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อเพื่อช่วยป้องกันอันตรายที่เกิดกับตัวอสุจิแช่แข็ง มีส่วนประกอบที่เป็นเลซิธินและไลโปโปรตีน มีคุณสมบัติป้องกันการช็อคเนื่องจากความเย็น (cold shock) นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งพลังงานสำรองสำหรับเมตาบอลิซึมของอสุจิในขณะที่อยู่ในทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมีย (Bearden and Fuquay 1992) องค์ประกอบของไข่แดงมีสารที่ช่วยป้องกันเซลล์อสุจิในระดับเยื่อหุ้มเซลล์มีสารจำพวก Low density lipoproteins (LDL) และไข่แดงของสัตว์ปีกแต่ละชนิดและมีสัดส่วนที่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสารประกอบ cholesterol ในไข่แดงและในสัตว์ปีกแต่ละชนิดมีปริมาณของ cholesterol ที่แตกต่างกัน (McLaughlin et al., 1992) ดังนั้นไข่แดงที่นำมาใช้เป็นองค์ประกอบในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อนั้นมีส่วนช่วยป้องกันความเสียหายที่เกิดกับเซลล์อสุจิแตกต่างกันในชนิดของไข่แดงในสัตว์ปีก (McLaughlin et al., 1992) จตุพร และอภิชัย (2552) รายงานว่า ไข่แดงจากไข่เป็ดและไข่นกกระทาให้อัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิโคภายหลังการแช่แข็งดีกว่าไข่แดงของไก่ แต่ไข่แดงของไก่พบอัตราอสุจิที่มีอะโครโซมปกติสูงกว่า ($P < 0.05$) จากเปรียบเทียบการใช้ไข่แดงของเป็ดและไก่ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งของม้าเพื่อป้องกันอันตรายของอสุจิ ผลพบว่า อัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิและการมีชีวิตของอสุจิหลังทำการ

ละลายในในสูตรน้ำเชื้อที่ใช้ไข่เป็ดดีกว่า (Shamim et al, 2010)

ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไข่แดงของไก่ เป็ด และนกกระทา ในสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อหลังการทำละลายในโค

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

วิธีการศึกษาในงานทดลองครั้งนี้ผ่านการพิจารณาโดยคณะกรรมการจริยบรรณและมาตรฐานการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ (Reference No. มกส. 018/2559) ใช้โคเนื้อพันธุ์บราห์มันเพศผู้ในการรีดน้ำเชื้อจำนวน 1 ตัว ที่มีอายุ 4-5 ปี มีระดับคะแนนร่างกายอยู่ที่ 4 (คะแนน 1-5) มีน้ำหนัก 1,200 กิโลกรัม ได้รับการตรวจโรคทางระบบสืบพันธุ์ได้แก่โรคแท้งติดต่อ (brucellosis) และปลอดจากโรคดังกล่าว สถานที่ทำการทดลองที่อำเภอเขียงยืน จังหวัดมหาสารคาม โคที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้รับการเลี้ยงและการจัดการควบคุมดูแลการให้อาหารและให้น้ำในแต่ละวันโดยมีขั้นตอนในการเลี้ยงจะแบ่งระยะเวลาออกเป็นดังนี้ ตอนเช้าเวลา 06.00 - 09.30 น. ให้อาหารข้นระดับโปรตีน 12% เสริมด้วยหญ้าสด ระยะเวลา 09.30 - 15.00 น. ให้โคได้ดื่มน้ำและพักในคอกตอนบ่ายระยะเวลา 15.00 - 18.00 น. ให้อาหารข้นโคอีกครั้ง และเสริมด้วยหญ้าสด สำหรับการรีดเก็บน้ำเชื้อโคทำการรีดเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ละครั้ง

ขั้นตอนกระบวนการแช่แข็งน้ำเชื้อโค

ทำการเตรียมอุปกรณ์ก่อน และหลังการใช้งานจะต้องล้างทำความสะอาดช่องคลอดเทียม (Artificial Vagina, AV) ทุกครั้ง นำช่องคลอดเทียมเติมน้ำอุณหภูมิประมาณ 42-45 °C แล้วอัดอากาศเข้าไปปรับความดันก่อนใช้งาน และหล่อลื่นด้วยเจล ทำการรีดน้ำ

เชื้อโดยใช้ช่องคลอดเทียมอุณหภูมิประมาณ 40-42 °C ขณะที่พองขึ้นที่ตัวล่อให้ดึงพองพันธุ์ลงและให้ขึ้นเป็นใหม่ 2-3 ครั้ง เพื่อทำให้พองพันธุ์เกิดความกำหนัดแล้วทำการรีดเก็บน้ำเชื้อ บ่มน้ำยาเชื้อจนน้ำเชื้อในอ่างควบคุมอุณหภูมิหรือน้ำอุ่นในปีกเกอร์ให้ได้ในระดับ 37 °C วิธีการประเมินตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ ทำได้โดยนำน้ำเชื้อไปตรวจประเมินคุณภาพให้เร็วที่สุดภายในห้องปฏิบัติการโดยการตรวจคุณภาพเบื้องต้น คือ ร้อยละของการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้า (motility) ร้อยละของอสุจิมียชีวิต (live-dead) ร้อยละของอสุจิที่มีรูปร่างปกติ (morphology) และ ความเข้มข้นของอสุจิ (concentration) น้ำเชื้อที่ใช้ผลิตเป็นน้ำเชื้อแช่แข็งต้องมีการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าอย่างน้อย 80% และทำการเจือจางน้ำเชื้อโดยสูตรน้ำยาเจือจางพื้นฐาน (Tris 3.02 g, Citric 1.65 g, Fructose 1.25 g, Egg yolk 20 ml, Glycerol 7 ml, Distill Water 68 ml; รวม 100 ml) โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามชนิดของไขแดงที่ใช้ในสูตรน้ำยาเจือจางได้แก่ กลุ่มที่ 1 (ไขแดงของไข่ไก่) กลุ่มที่ 2 (ไขแดงของไข่เป็ด) และกลุ่มที่ 3 (ไขแดงของไขนกกระทา) จากนั้นทำการบรรจุน้ำเชื้อใส่ในหลอดน้ำเชื้อขนาด 0.25 มิลลิลิตรที่ความเข้มข้น 20 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร และทำการลดอุณหภูมิจาก 37 °C จนกระทั่งถึง 4 °C ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำหลอดน้ำเชื้อมาลดอุณหภูมิ -120 °C เป็นเวลา 10 นาที โดยใช้วิธีการการองไอน์โตรเจนเหลว ซึ่งให้ระดับตะแกรงที่รองหลอดน้ำเชื้อ สูงจากระดับไนโตรเจน 4 เซนติเมตร การเก็บหลอดบรรจุน้ำเชื้อเก็บไว้ในถังไนโตรเจนที่อุณหภูมิ -196 °C

การตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการทำลาย

การตรวจประเมินด้วยเครื่อง HT CASA II Animal Breeder II version 12.0 (Hamilton-Thorne) ทำได้โดยการสุ่มและเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อที่ทำการรีดจำนวน 3 ครั้ง และทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังทำการละลายโดยได้ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ

โคในวันที่ 14 หลังการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยประเมิน

1) ผลต่อวิธีการเคลื่อนที่ของอสุจิ 2) ผลต่อลักษณะและค่าสัมประสิทธิ์การเคลื่อนที่ 3) ความยาวและพื้นที่ส่วนหัวของอสุจิ และการตรวจประเมินร้อยละของอสุจิที่มีชีวิต และความสมบูรณ์ของอะโครโซม ทำการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ 1) ร้อยละของอสุจิที่เคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้า โดยการอุ่นน้ำเชื้อที่ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที หยดน้ำเชื้อบนแผ่น slide ที่อุณหภูมิ 37 °C ประเมินการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้า โดยนับอสุจิ ครั้งละ 20 ตัว แยกเป็นกลุ่มที่เคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้า และกลุ่มที่ไม่เคลื่อนและเคลื่อนที่แบบไม่ตรงสุมนับหลายพื้นที่จนครบ 300 ตัว คำนวณเป็นร้อยละ 2) การประเมินร้อยละของอสุจิมียชีวิต ดำเนินการโดยหยดน้ำเชื้อเจือจางในหลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตร จำนวน 1 หยด และหยดสี nigrosin-eosin 2 หยด (nigrosin 5 กรัม และ eosin 1 กรัม ในสารละลาย Na-citrate 100 มิลลิลิตร) จุ่มในน้ำอุ่น 37°C เป็นเวลา 3 นาที ดูดส่วนผสมหยดลงบน slide ที่สะอาด จากนั้นทำการ smear เป่าให้แห้งด้วยอุปกรณ์เป่าลมร้อน ประเมินร้อยละของอสุจิที่ไม่ติดสี (อสุจิมียชีวิต) จำนวน 2 slide แต่ละ slide ไม่ต่ำกว่า 200 ตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100X 3) การประเมินความสมบูรณ์ของอะโครโซมใช้ slide เดียวกับในข้อ 2 ทำการประเมินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000X อสุจิมียชีวิตที่มีขอบอะโครโซมปกติ จะไม่ติดสี และขอบอะโครโซมบริเวณหัวจะเรียบไม่มีรอยรุ่มบวมสลาย ตามวิธีการของ เทวินทร์ และคณะ (2558)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) และทดสอบหาอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยที่เกิดจากชนิดของไข่ ทำการวิเคราะห์โดยใช้ GLM procedure of SAS (2001) และการทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Steel et al., 1997)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลต่อการเคลื่อนไหวแบบหมู่ อสุจิที่มีชีวิต และความสมบูรณ์ของอะโครโซม

ผลการศึกษาพบว่าไข่ไก่ที่ได้จากสูตรที่ใช้ไข่แดงของไข่เป็ดที่ระดับ 20% ในน้ำยาเจือจางคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการทำละลายพบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวหมู่ และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงกว่า ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบการใช้ไข่แดงนกกกระทาและไข่แดงของไก่ (Table 1) ผลการศึกษากลุ่มที่เสริมไข่แดงไก่ เป็ด และ

นกกกระทา ระดับ 20% ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายในโค พบว่าร้อยละของอสุจิที่มีชีวิตในกลุ่มที่เสริมด้วยไข่ไก่ และไข่เป็ด สูงกว่าในกลุ่มที่เสริมด้วยไข่นกกกระทาอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นเดียวกับความสมบูรณ์ของอะโครโซมพบว่าในกลุ่มที่เสริมด้วยไข่ไก่ และไข่เป็ดสูงกว่าในกลุ่มที่เสริมด้วยไข่นกกกระทาอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริมด้วยไข่ไก่ และไข่เป็ดพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

Table 1 Effect of chicken, duck and quail egg yolk in extender on quality characteristic of post thaw bull semen (mean $\pm$ SEM)

Parameters	20 % egg yolk in extender		
	Chicken	Duck	Quail
Progressive motility	14.4 $\pm$ 0.31 ^b	16.6 $\pm$ 0.31 ^a	11.2 $\pm$ 0.20 ^c
Sperm Viability	64.00 $\pm$ 4.36 ^a	64.67 $\pm$ 4.06 ^a	48.00 $\pm$ 1.73 ^b
Acrosomal integrity	59.67 $\pm$ 4.98 ^a	57.30 $\pm$ 2.08 ^a	45.33 $\pm$ 1.83 ^b

a, b, c Within a row, means with different superscripts differ ($P<0.05$).

จากงานทดลองที่พบว่าไข่นกกกระทามีค่าต่ำสุดเนื่องจากมีความแปรปรวนในเรื่ององค์ประกอบไข่ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า ชนิด สายพันธุ์ และอาหารที่เลี้ยง ต่างเป็นปัจจัยที่ทำให้องค์ประกอบของไข่สัตว์ปีกชนิดต่างๆ มีความแตกต่างกัน (Scheideler et al., 1998) ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบของไข่ ได้แก่ cholesterol, fatty acids และ phospholipids ล้วนแล้วแต่มีหน้าที่ปกป้องเซลล์อสุจิจากความเย็น จึงส่งผลให้ระดับความสามารถในการปกป้องตัวอสุจิได้ในระดับที่ต่างกัน (เทวินทร์ และคณะ, 2558) จากผลดังกล่าวสอดคล้องกับ El-Shamaa et al. (2008) รายงานว่าเมื่อพิจารณาการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของน้ำเชื้อแช่แข็งหลังละลายแล้วเห็นว่าในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีการใช้ไข่แดงเป็ดมีร้อยละการเคลื่อนไหวหมู่สูงกว่าการใช้ไข่แดงของไข่ไก่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งสามระดับ คือ 10, 15 และ 20% และให้ผลสอดคล้องกับ

Bathgate et al. (2006) ที่รายงานว่า น้ำเชื้อโคที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจาง egg yolk tris ที่มีไข่แดงของไข่เป็ดและไข่นกกกระทาเป็นองค์ประกอบมีการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิสูงกว่าน้ำเชื้อสุกรที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ egg yolk tris ที่มีไข่แดงของไข่ไก่

ผลต่อวิธีการเคลื่อนที่ของอสุจิ

ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไข่ไก่ที่ระดับ 20% ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายในโคพบว่าวิธีการเคลื่อนที่แบบเฉลี่ย (VAP; velocity average path) วิธีการเคลื่อนที่แบบโค้ง (VCL ; velocity curved line) และวิถีเคลื่อนที่แบบตรง (VSL; velocity straight line) ของอสุจิมากที่สุด ($P<0.05$) รองลงมาคือกลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไข่เป็ดและไข่นกกกระทาตามลำดับ (Table 2)

Table 2 Effect of chicken, duck and quail egg yolk in extender on motion parameters of post thaw bull semen (mean $\pm$ SEM)

Parameters	20 % egg yolk in extender		
	chicken	duck	quail
VAP	76.84 $\pm$ 0.16 ^a	74.20 $\pm$ 0.20 ^b	62.20 $\pm$ 0.12 ^c
VSL	56.02 $\pm$ 0.02 ^a	54.48 $\pm$ 0.29 ^b	45.30 $\pm$ 0.30 ^c
VCL	137.67 $\pm$ 0.31 ^a	134.83 $\pm$ 0.17 ^b	107.47 $\pm$ 0.29 ^c

a, b, c Within a row, means with different superscripts differ ($P < 0.05$).

VAP (μ m/s): velocity average path, VSL (μ m/s): velocity straight line, VCL (μ m /s): velocity curved line

แต่อย่างไรก็ตาม ค่าที่ได้โดยการใช้โปรแกรมในการวิเคราะห์พบว่าให้ผลที่มีความแม่นยำและรวดเร็ว (Rijsselaere et al., 2005) และควรทำการประเมินร่วมกับวิธีดั้งเดิมที่ประเมินผลผ่านกล้องจุลทรรศน์เนื่องจากค่า VAP และ VCL ที่ได้จากการคำนวณอาจลดลงภายหลังการทำละลาย Tretipskul et al. (2010) ทำให้ค่าที่ได้ไม่มีความถูกต้องเพียงพอ เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบผลที่ได้ว่ามีแนวโน้มหรือค่าที่ใกล้เคียงกันหรือไม่ Kawaguchi et al. (2004) รายงานถึงค่าของ sperm velocities (VAP VSL และ VCL) ที่ลดลงส่งผลต่อค่าการเคลื่อนที่ของอสุจิที่ลดลงและร้อยละอสุจิที่เคลื่อนที่ผิดปกติที่มากขึ้นและส่งผลต่อการผสมติดครั้งแรกที่ต่ำ

ผลต่อลักษณะและค่าสัมประสิทธิ์การเคลื่อนที่

ผลการศึกษากลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไก่และไข่แดงของเป็ดในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในโคนหลังละลายต่อความกว้างด้านข้างของหัวที่ใช้ในการเคลื่อนที่ motile amplitude of lateral head displacement (ALH) พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน แต่พบว่ามีค่ามากกว่า ($P < 0.05$) กลุ่มที่ใช้ไข่แดงของนกกระทาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) ค่าลักษณะความถี่ที่หัวตัวอสุจิส่ายไปมาในขณะเคลื่อนที่ beat cross frequency (BCF) มีค่าไม่แตกต่างกันในกลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไก่และไข่แดงของนกกระทา แต่พบว่ามีค่ามากกว่า ($P < 0.05$) กลุ่มที่ใช้ไข่แดงของเป็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3)

Table 3 Effect of chicken, duck and quail egg yolk in extender on motile of post thaw bull semen (mean $\pm$ SEM)

Parameters	20 % egg yolk in extender		
	chicken	duck	quail
ALH	8.02 $\pm$ 0.08 ^a	7.78 $\pm$ 0.02 ^a	6.29 $\pm$ 0.04 ^b
BCF	23.69 $\pm$ 0.35 ^a	21.76 $\pm$ 0.37 ^b	23.49 $\pm$ 0.27 ^a
STR	72.23 $\pm$ 0.23 ^b	72.03 $\pm$ 0.33 ^b	76.62 $\pm$ 0.19 ^a
LIN	41.51 $\pm$ 0.29 ^b	40.10 $\pm$ 0.06 ^c	47.62 $\pm$ 0.31 ^a

a, b, c Within a row, means with different superscripts differ ($P < 0.05$).

ALH (μ m): amplitude of lateral head displacement, BCF (Hz): beat cross frequency, STR (%): straightness coefficient line, LIN (%): linearity coefficient

Peña et al. (2003) ได้กล่าวถึงกระบวนการที่ทำให้สpermพร้อมปฏิสนธิ (capacitation) ภายหลังการทำละลายน้ำเชื้อแช่แข็งส่งผลให้ค่า VCL และ ALH ลดลงซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับโดยตรงกับอภิทธิพลเนื่องมาจาก

ชนิดของไข่แดงและระดับของกรีเซอรอล Ban et al. (1999) รายงานถึงค่า VCL และ ALH ที่ลดลงส่งผลต่อการผสมติดที่ต่ำลง cancel et al. (2000) รายงานถึงการเพิ่มขึ้นของค่า BCF ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า

VAP, VCL และ ALH ค่าสัมประสิทธิ์การเคลื่อนที่แบบยืดตรง motile straightness coefficient (STR) ในกลุ่มที่ใช้ไข่แดงของนกกระทามีเปอร์เซ็นต์ที่สูงที่สุด ($P<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไข่ไก่และเปิดมีค่ามีค่า motile STR ต่ำกว่า ($P<0.05$) แต่ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 3) เช่นเดียวกันกับค่าสัมประสิทธิ์การเคลื่อนที่แบบเส้นตรง motile linearity coefficient (LIN) มีเปอร์เซ็นต์มากที่สุด ($P<0.05$) ในกลุ่มที่ใช้ไข่แดงของนกกระทารองลงมาคือกลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไข่ไก่ และกลุ่มที่มีเปอร์เซ็นต์น้อยที่สุด ($P<0.05$) คือกลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไข่เปิด (Table 3) Peña et al. (2003) ได้กล่าวถึง

กระบวนการที่ทำให้หลอดจิพร้อมปฏิสนธิ (capacitation) ภายหลังการทำละลายน้ำเชื้อแช่แข็งส่งผลให้ค่า LIN เพิ่มขึ้น ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับโดยตรงกับอิทธิพลเนื่องมาจากชนิดของไข่แดง

ความยาวและพื้นที่ส่วนหัวของอสุจิ

ค่าความยาว (motile elongation) ของส่วนหัวอสุจิพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ระหว่างกลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไข่นกกระทามีค่ามากกว่า ($P<0.05$) กลุ่มที่ใช้ไข่ไก่ แต่พบว่าทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ใช้ไข่แดงจากไข่เปิด (Table 4)

Table 4 Effect of chicken, duck and quail egg yolk in extender on motile elongation and area of sperm of post thaw bull semen (mean $\pm$ SEM)

Parameters	20 % egg yolk in extender		
	chicken	duck	quail
Motile Elongation (Square Microns)	44.00 $\pm$ 3.00 ^b	47.00 $\pm$ 1.00 ^{ab}	51.00 $\pm$ 1.00 ^a
Motile AREA (Microns)	19.79 $\pm$ 0.21 ^a	18.91 $\pm$ 0.09 ^b	16.95 $\pm$ 0.05 ^c

a, b, c Within a row, means with different superscripts differ ($P<0.05$).

และค่าพื้นที่ส่วนหัว (motile AREA) ของอสุจิพบว่ามีความมากที่สุด ($P<0.05$) ในกลุ่มที่ใช้ไข่แดงของไข่ไก่ รองลงมาคือกลุ่มที่ใช้ไข่เปิด และกลุ่มที่ใช้ไข่แดงจากนกกระทามีค่าน้อยที่สุด ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ (Table 4) กวินท์ คำปาละ และคณะ (2556) ได้รายงานไว้ว่าหากหัวของเซลล์อสุจิมีความยาวมากจะทำให้ค่าคะแนนการเคลื่อนที่แบบกลุ่ม สูง แต่ถ้าหัวของเซลล์อสุจิ มีความยาวน้อยจะทำให้ค่าคะแนนการเคลื่อนที่แบบกลุ่มต่ำสอดคล้องกับความสัมพันธ์ เชิงบวกระหว่างการเคลื่อนที่แบบกลุ่มกับ elongation ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้รูปร่าง (shape) ของเซลล์อสุจิ ในมิติแบบกลมรี หรือ elongated head ทั้งนี้เนื่องจากอสุจิที่มีรูปร่างกลมรีหรือกลมค่อนข้างยาว จะมีความต้านทานในการเคลื่อนที่ต่ำ ทำให้อสุจิมีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าได้ดีกว่า อสุจิที่มีความยาวส่วนหัวน้อยกว่า

สรุป

จากการศึกษาในครั้งนี้ สรุปได้ว่าผลการใช้ไข่แดงเปิดที่ระดับ 20% ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อมากที่สุด และเหมาะสมสำหรับการใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อโคเพื่อเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งเมื่อพิจารณาจากผลต่อค่าร้อยละอสุจิที่มีชีวิต และความสมบูรณ์ของอะโครโซม รองลงมาคือไข่แดงของไข่ไก่ และไข่ไก่นกกระทา แต่อย่างไรก็ตามการร้อยละการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิในการทดลองครั้งนี้ยังมีค่าไม่สูงนักดังนั้นซึ่งอาจเป็นมาจากอิทธิพลของปัจจัยหลายๆ ปัจจัยซึ่งจำเป็นต้องได้รับการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- จตุพร พงษ์เพ็ง และ อภิชัย พูนชัย. 2552. การเปรียบเทียบน้ำยาเจือจาง Egg yolk tris ที่มีไข่แดงนกกระทา ไก่ และเป็ดเป็นองค์ประกอบต่อคุณภาพ น้ำเชื้อแช่แข็งโค. เทคโนโลยีเพื่อการผลิตสัตว์. 4: 32-43.
- เทวินทร์ วงษ์พระดับ, พัชรา ธนานุรักษ์, นริศรา สวयरูป, ชมัยพร สิทธิเกษมกิจ และพิรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ. 2558. ผลของไข่แดงจากสัตว์ปีกต่างชนิดต่อคุณภาพน้ำเชื้อของสุกรที่เก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิ 5 °C. แก่นเกษตร. 43: 195-201.
- กวินท์ คำปาละ นิภา นาสินพร้อม และประมวล เต็มสมบัติถาวร. 2556. ความสัมพันธ์ของขนาดเซลล์อสุจิกับการเคลื่อนที่แบบกลุ่มในน้ำเชื้อสุกร. วิทยาศาสตร์เกษตร. 44: 363-366.
- Bearden, H.J., and J.W. Fuquay. 1992. Applied animal reproduction 3th ed. Prentice-Hall, inc., New Jersey.
- El-Shamaa, I., E. El-Shenawy, A. Hussein, M. El-Sherbieny, and M. El-Sharawy. 2008. A comparison of duck and chicken egg yolk for cryopreservation of Egyptian buffalo bull spermatozoa. Austra. Vet. J. 85: 232 - 235.
- Ban, Y., U. Asanabe, S. Inagaki, M. Sasaki, T. Nakatsuka, and H. Matsumoto. 1999. Effects of ALPHA.-chlorohydrin on rat sperm motions in relation to male reproductive functions. J. Toxicol. Sci. 24: 407-413.
- Bathgate, R., W.M. Maxwell and G. Evans. 2006. Studies on the effect of supplementing boar semen cryopreservation media with different avian egg yolk types on in vitro post-thaw sperm quality. Reprod. Domest. Anim. 41: 68-73.
- Kawaguchi, T., M. Kawachi, M. Morikawa, H. Kazuta K. Shibata, M. Ishida N. Kitagawa A. Matsuo, and T. Kadota. 2004. Key parameters of sperm motion in relation to male fertility in rats given alpha-chlorohydrin or nitrobenzene. J. Toxicol. Sci. 29: 217-231.
- Papa, P.M., M.D. Rosiara, N.G. Priscilla, R.J. Cassio P.F. Camila, O.P. Frederico, P.V. Felipe, A.A. Marco, M.C. André, and J.A.J. Dell'Aqua. 2015. Effect of glycerol on the viability and fertility of cooled bovine semen. Theriogenology. 83: 107-113.
- Peña, F.J., A. Johannisson, M. Wallgren and H. Rodriguez-Martinez. 2003. Assessment of fresh and frozen-thawed boar semen using an annexin-v assay: a new method of evaluating sperm membrane integrity. Theriogenology. 60: 677 - 689.
- Rijsselaere, T., A.V. Soom, S. Tanghe, M. Coryn, D. Maes, and A.D. Kruif. 2005. New techniques for the assessment of canine semen quality: A review. Theriogenology. 64: 706 - 719.
- SAS. 2001. SAS System (Release 8.2). SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shamim Akhter, Bushra Allah Rakha, Syed Murtaza Hasan Andrabi, Muhammad Sajjad Ansari. 2010. Comparison of egg yolks from three avian species in extender for cryopreservation of Sahiwal bullepididymal spermatozoa
- Steel, R. G. D., J. H. Torrie, and D. A. Dickey. 1997. Principles and procedures of statistics a biometrical approach. 666 p.
- Tretipskul, C., K. Buranaamnuay, S. Koonjaenak, P. Tummaruk, and M. Techakumphu. 2010. The Use of Computer-Assisted Sperm Analysis for Discriminating Series of Motility Pattern of Frozen-thawed Boar Semen Thai J. Vet. Med. 40: 25 - 30.