การศึกษาเบื้องต้นในการเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อแบบแช่แข็งในโคพื้นเมืองไทย

The Preliminary Study on Deep-freezing of Thai Native Cattle Semen

เทวินทร์ วงษ์พระลับ (Thevin Vongpralub)*
บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ (Banyat Loapaiboon)*
พิชญ์รัดน์ แสนไชยสุริยา (Pitcharat Sanchaisuriya)*
ปิยศักดิ์ สุวรรณี (Piyasuk Suwannee)**
ประมร เมืองพรม (Pramon Muangphrom)**
พิทักษ์ เผ่าผา (Phituk Paopha)***

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการเก็บรักษาน้ำเชื้อโคพื้นเมืองแบบแช่แข็ง โดยใช้อุปกรณ์แบบประหยัด ทำการแช่แข็งนอกห้องปฏิบัติการ ซึ่งในการศึกษาประกอบด้วย การศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการทนทานต่อขบวนการแช่แข็งและทำละลายของอสุจิโคพื้นเมือง และการศึกษาเปรียบเทียบอิทธิพลของน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง จากการศึกษาพบว่าน้ำเชื้อโคพื้นเมืองจำนวน 12 ตัว ซึ่งทำการรีดศึกษาตัวละ 2 ครั้ง มีเปอร์เซนต์อสุจิเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า และเปอร์เซนต์อสุจิที่มีขอบอะโครโซมปกติภายหลังการทำละลายเท่ากับ 41.6±16.5 และ 28.2±17.4 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันระหว่างพ่อพันธุ์ ($p<0.05$) และจากการศึกษาอิทธิพลของน้ำยาเจือจางสูตร egg yolk-tris, egg yolk-citrate, skimmed milk และ IVT ต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง ให้ผลไม่แตกต่างกัน

Abstract

The objectives of this study were to evaluate freezability of Thai native cattle semen, by using simple technique and influences of extenders on quality of postthaw frozen semen. Two ejaculates from each of twelve bulls were used in randomized completed block design to determine freezability. Diluted semen was packaged in 0.25 ml. French straw and frozened horizontally in a styrofoam box under field condition. The freezability was significant differences among the bull ($p<0.05$). The effect of four extenders; egg yolk-tris, egg yolk-citrate, skimmed milk and IVT, on the percentage of postthaw progressive motility and acrosome retention were not significantly differences among the extenders.

คำสำคัญ : น้ำเชื้อแบบแช่แข็ง โคพื้นเมืองไทย
Keywords : Frozen semen, Thai native cattle.

* *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
** *นักวิชาการสัตวบาล สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี*
*** *นายสัตวแพทย์ สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี*

บทนำ

โคพื้นเมืองเป็นสัตว์เลี้ยงที่นับได้ว่ามีบทบาทที่สำคัญต่อวิถีชีวิตของคนไทยมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ด้วยเหตุที่โคพื้นเมืองมีอัตราการเจริญเติบโตและคุณภาพเนื้อเมื่อปรุงแต่งเป็นอาหารตามแบบชาวตะวันตก ด้อยกว่าโคที่นำเข้าจากต่างประเทศ จึงก่อให้เกิดกระแสทัศน์ของนักวิชาการต่อโคพื้นเมืองในสถานะภาพของสัตว์ที่มีคุณค่าต่ำ อย่างไรก็ตามประชาชนในชนบทท้วไปยังคงนิยมเลี้ยงและบริโภคโคพื้นเมืองตลอดมา ทั้งนี้เนื่องมาจากคุณภาพเนื้อเหมาะสมกับการปรุงแต่งอาหารแบบพื้นบ้าน และโคพื้นเมืองสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แร้นแค้น เลี้ยงง่าย อีกทั้งมีความสมบูรณ์พันธุ์สูง โดยมีรายงานว่าในระหว่าง พ.ศ. 2536 ถึง 2540 แม่โคพื้นเมืองสามารถให้ลูกเฉลี่ย 90.6 เปอร์เซ็นต์/ปี (สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี, 2541) ในปัจจุบันประชากรของโคพื้นเมืองแท้ได้ลดจำนวนลงมากอย่างน่าเป็นห่วง ในขณะที่ข้อมูลทางวิชาการในด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโคพื้นเมืองยังมีน้อย การศึกษาข้อมูลทางด้านต่าง ๆ ตลอดจนน้ำเชื้อโคพื้นเมืองจึงเป็นสิ่งที่น่าศึกษา สำหรับการเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อโคโดยทั่วไปนั้น นิยมทำการเก็บรักษา 2 แบบคือ การเก็บรักษาในระยะเวลาสั้น 2-3 วัน และการเก็บรักษาคุณภาพได้นานหลายปี (Herman ; Mitchell and Doak, 1994)

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งของโค ได้แก่ คุณภาพเบื้องต้นของน้ำเชื้อ (Herman ; Mitchell and Doak, 1994) น้ำยาเจือจาง (Watson, 1979) อัตราการลดอุณหภูมิไปที่ 5° ซ การเติมกลีเซอรอล (glycerol) รูปแบบของการบรรจุน้ำเชื้อ อัตราการลดอุณหภูมิ อัตราการเพิ่มอุณหภูมิขณะทำละลาย (Pickett and Berndtson, 1974 ; Salisbury ; Van Dermark and Lodge, 1978 : Watson, 1979) ตลอดจนความสามารถในการทนต่อชบวนการแช่แข็งและทำละลายของอสุจิพ่อพันธุ์แต่ละตัว (freezability) (Dhami ; Sahni and Mohan, 1992 : Dhami and Sahni, 1995) ในแง่ของความหลากหลายทางชีวภาพพันธุกรรมของโคพื้นเมืองไทยแท้มีความหมิ่นเหม่ต่อการที่จะสูญหายไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อโคพื้นเมืองแบบแช่แข็ง ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงความเป็นไปได้ในการทำน้ำเชื้อโคพื้นเมืองแช่แข็งภายใต้สภาพสนาม โดยทำการศึกษาความสามารถในการทนทานต่อชบวนการแช่แข็ง และทำละลายของอสุจิพ่อพันธุ์แต่ละตัว รวมทั้งการศึกษาน้ำยาเจือจางที่เหมาะสมที่ใช้ในการแช่แข็ง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาปรับปรุงการทำน้ำเชื้อแช่แข็งโคพื้นเมือง ซึ่งจะมีประโยชน์ในแง่ของการอนุรักษ์พันธุกรรมโคพื้นเมืองต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้แบ่งเป็น 2 ส่วนคือ

1. การศึกษาความสามารถในการทนต่อชบวนการแช่แข็งและทำละลายของอสุจิโคพื้นเมือง

ใช้โคพ่อพันธุ์พื้นเมืองอายุระหว่าง 3-10 ปี จำนวน 12 ตัว ทำการศึกษาที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี (อำเภอบุณฑริก) จำนวน 8 ตัว และที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 4 ตัว ซึ่งจัดสภาพการเลี้ยงดูแบบเดียวกัน ทำการเก็บน้ำเชื้อระหว่างเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน 2540 โดยวิธีใช้เครื่องกระตุ้นไฟฟ้า (electroejaculation technique) สาเหตุเนื่องจากพ่อพันธุ์เปรียวและไม่เคยถูกฝึกรีดน้ำเชื้อโดยใช้ช่องคลอดเทียมมาก่อน น้ำเชื้อ

พ่อพันธุ์จะถูกรีดทิ้งก่อนการเก็บน้ำเชื้อเพื่อศึกษาประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อให้ได้รับตัวอสุจิที่มีอายุไม่มากเกินไป จากนั้นจึงนำน้ำเชื้อที่รีดได้ไปตรวจคุณภาพภายในเวลา 20 นาที วัดปริมาตร ตรวจดูสภาพทั่วไป อัตราเคลื่อนที่ของตัวอสุจิแบบเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (progressive molility) อัตราของอสุจิที่มีรูปร่างผิดปกติภายหลังการย้อมด้วยสี eosin-nigrosin และความเข้มข้นของอสุจิโดยนับจากอุปกรณ์นับเม็ดเลือด (hemacytometer)

ในการตรวจคุณภาพ น้ำเชื้อที่มีอัตราการเคลื่อนที่ตั้งแต่ 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และมีอสุจิรูปร่างผิดปกติไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ (Dumangas and Perena, 1984) ถูกนำไปเจือจางด้วยน้ำยาเจือจางสูตร Tris-egg yolk โดยให้มีจำนวนอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้าประมาณ 240 × 106 ตัว/มล. จากนั้นลดอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้องจนถึงอุณหภูมิ 5° ซ ภายในเวลาประมาณ 2 ชม. วิธีการลดอุณหภูมินอกห้องปฏิบัติการโดยใช้น้ำแข็งและน้ำเย็นเป็นตัวช่วยลดอุณหภูมิ เมื่อน้ำเชื้อเจือจางมีอุณหภูมิ 5° ซ แล้วทำการเจือจางอีกครั้งหนึ่งด้วยน้ำยาสูตรเดิมที่มีส่วนผสมของกลีเซอรอล (glycerol) 14% อุณหภูมิ 5° ซ โดยทำการแบ่งเติม 4 ครั้งภายใน 1 ชม. ความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำเชื้อจะเป็น 120 × 106 ตัว/มล. บรรจุน้ำเชื้อดังกล่าวในหลอด mini straw ขนาดบรรจุ 0.25 มล. และอุดปลายด้านที่เปิดด้วยผง polyvinyl alcohol นำหลอดบรรจุน้ำเชื้อดังกล่าวไปวางไว้ที่อุณหภูมิ 5° ซ เป็นเวลา 2 ชม. (equilibration) จึงนำไปวางบนตระแกรงในกล่องโฟมที่บรรจุไนโตรเจนเหลว ให้ตระแกรงอยู่เหนือไนโตรเจนเหลว 4 ชม. จากนั้นย้ายหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งลงเก็บในถังเก็บน้ำเชื้อ ภายหลังการอังไอไนโตรเจนเหลว 15 นาที (Dumangas and Perena, 1984 : Linsay ; Entwistle and Winantea, 1982)

เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อในถังบรรจุไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 3 วัน ทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโดยนำ straw น้ำเชื้อแช่แข็งมาจุ่มใน water bath ที่ระดับอุณหภูมิ 38° ซ นาน 30 วินาที ตรวจดูเปอร์เซ็นต์อสุจิที่เคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า (progressive motility, PM) และเปอร์เซ็นต์ของอสุจิที่มีปลายหัวปกติ (normal apical ridge, NAR) ตามวิธีการของ Dott and Foster (1972) น้ำเชื้อแช่แข็งอีกส่วนหนึ่งจะแช่ไว้ที่อุณหภูมิ 38° ซ เป็นเวลา 5 ชม. (incubation test) จากนั้นจึงนำมาศึกษาคุณภาพซึ่งมีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์พันธุ์ (Watson, 1979)

การวิเคราะห์ทางสถิติ วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design โดยมีทรีตเมนต์เป็นพ่อพันธุ์จำนวน 12 ตัว ทำการรีดน้ำเชื้อตัวละ 2 ครั้ง นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์อสุจิที่เคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีอะโครโซมปกติ ซึ่งได้จากค่าเฉลี่ยของน้ำเชื้อจำนวน 4 หลอด มาแปลงค่าเป็น arcsine จากนั้นวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ด้วยวิธี Duncans new multiple range test (DMRT)

2. ศึกษาเปรียบเทียบอิทธิพลของน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งและทำละลาย

สูตรน้ำยาเจือจางที่ใช้คือ egg-yolk-tris, egg-yolk citrate, skimmed milk และ IVT (Illinois variable temperature) (Salisbury ; Van DerMark and Lodge, 1978) โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายของกลีเซอรอลในน้ำเชื้อเจือจางแต่ละสูตรเท่ากับ 7 เปอร์เซ็นต์เช่นเดียวกัน

การวิเคราะห์ทางสถิติใช้แผนการทดลองแบบ completely randomized design โดยทรีตเมนต์

เป็นสูตรน้ำยาเจือจาง จำนวน 4 สูตร ทำการศึกษาน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ จำนวน 4 ตัว วิธีการศึกษาและการวิเคราะห์ทางสถิติใช้วิธีการเดียวกับการศึกษาที่ 1

ผลการศึกษา

1. ความสามารถในการทนทานของอสุจิโคพื้นเมืองต่อขบวนการแช่แข็งและทำละลาย จากการศึกษาพบว่าคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการลดอุณหภูมิไปที่ 5° ซ ก่อนการแช่แข็ง เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิแบบเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของพ่อโคพันธุ์พื้นเมืองมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 67.5-82.8 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีขอบอะโครโซมปกติมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 89.5-94.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้ง 2 ลักษณะ

ส่วนคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งภายหลังการทำละลายแล้ว พบว่า มีความแตกต่างระหว่างพ่อพันธุ์ โดยเมื่อทำการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งภายหลังการทำละลายที่ระยะเวลา 0 ชม. พบว่าเปอร์เซนต์การเคลื่อนที่ของอสุจิแบบไปข้างหน้ามีความแตกต่างระหว่างพ่อพันธุ์ ส่วนการศึกษาที่ระยะเวลา 5 ชม. ของการอุ่นที่ 38° ซ อัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิที่ 0 และที่ 5 ชม. ของการอุ่นที่ 38° ซ ภายหลังการทำละลายเมื่อเทียบกันเมื่อก่อนการแช่แข็ง พบว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างพ่อพันธุ์ ($p<0.05$)

จากการศึกษารูปร่างอะโครโซมภายหลังการแช่แข็งและทำละลายนั้น น้ำเชื้อภายหลังการทำละลาย 0 ชม. มีรูปร่างอะโครโซมที่มีขอบปกติไม่แตกต่างกันระหว่างพ่อพันธุ์ ส่วนเปอร์เซ็นต์ของอะโครโซมที่มีขอบปกติ ภายหลังการอุ่นที่ 38° ซ เป็นเวลา 5 ชม. มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างพ่อพันธุ์ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1

2. การศึกษาเปรียบเทียบอิทธิพลของน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งและทำละลายจากการศึกษาพบว่า น้ำยา 4 สูตร คือ egg yolk tris, egg yolk-citrate Skimmed milk และ IVT ให้ผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในโคพื้นเมืองไม่แตกต่างกันทั้งเปอร์เซนต์อสุจิเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าและเปอร์เซนต์อสุจิที่มีขอบอะโครโซมปกติที่ 0 ชม. และ 5 ชม. ภายหลังการทำละลาย (ตารางที่ 2)

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถสรุปได้ว่าคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งของโคพ่อพันธุ์พื้นเมืองมีความแตกต่างระหว่างพ่อพันธุ์ โดยมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่เคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าภายหลังการทำละลาย (Post thawing) ที่ 0 ชม. มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 41.6±16.5 และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีขอบอะโครโซมปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 28.2±17.4 ความแตกต่างดังกล่าวของคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง ซึ่งแตกต่างกันไปในพ่อพันธุ์แต่ละตัว สอดคล้องกับรายงานในโคพันธุ์อื่น ซึ่งโดยปกติแล้วคุณภาพน้ำเชื้อก่อนและหลังการแช่แข็งระหว่างพ่อพันธุ์แต่ละตัวจะมีความแตกต่างกัน หรือแม้แต่พ่อพันธุ์เดียวกันน้ำเชื้อที่รีดในแต่ละครั้งอาจมีคุณภาพแตกต่างกัน (Jones and Stewart, 1979 : Coulter, 1992 : Dhami ; Sahni and Mohan, 1992 : Dhami and Sahni, 1995) น้ำเชื้อพ่อพันธุ์บางตัวมีคุณภาพดี แต่เมื่อทำการแช่แข็งและทำละลายแล้วอาจพบว่ามีความสามารถในการทนทานต่อขบวนการแช่แข็งและทำละลายต่ำได้ (Watson, 1979) สำหรับโคพื้นเมืองไทยแล้ว

ยังไม่มีรายงานการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง แต่จากรายงานที่ทำการศึกษาในโคตระกูลยุโรป (Bos taurus) และโคตระกูลอินเดีย (Bos indicus) กลุ่มอื่น ได้มีรายงานถึงคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งภายหลังการทำละลายแตกต่างกันไป โดย Pickett and Berndtson (1974) รายงานว่า ในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ 102 ตัว อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าของอสุจิก่อนการแช่แข็งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 67.8 เปอร์เซ็นต์ และภายหลังการแช่แข็งและทำละลายมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 66.4 เปอร์เซ็นต์ Wiggin and Almquist (1975) ได้รายงานถึงการทำน้ำเชื้อแช่แข็งโค 12 ตัว ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าภายหลังรีด 63 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ภายหลังการแช่แข็งและทำละลายน้ำเชื้อที่ได้มีอสุจิเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าเฉลี่ยเท่ากับ 34 เปอร์เซ็นต์ และมีอสุจิที่มีอะโครโซมปกติเฉลี่ยเท่ากับ 62 เปอร์เซ็นต์ Rhodes adn Galina (1985) รายงานว่า ในการศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งของโคตระกูล Bos taurus และ Bos indicus พบว่าการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าของอสุจิมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 46.7 และ 27.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Herman; Mitchell and Doak (1994) รายงานว่า โดยเฉลี่ยแล้วน้ำเชื้อแช่แข็งจะมีอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอสุจิที่มีขอบอะโครโซมปกติมีค่าระหว่าง 30-70 และ 45-80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม Dumangas and Perena (1984) รายงานว่าน้ำเชื้อแช่แข็งที่จะนำไปใช้ควรมีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิภายหลังการทำละลายอย่างต่ำ 30 เปอร์เซ็นต์ และในการศึกษาครั้งนี้ปรากฏว่าโคพื้นเมือง 10 ตัว ในจำนวน 12 ตัว ที่มีอสุจิเคลื่อนที่อย่างต่ำ 30 เปอร์เซ็นต์

รายงานต่าง ๆ ข้างต้นเป็นขบวนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งจากอุปกรณ์และวิธีการมาตรฐานในศูนย์ผสมเทียมต่าง ๆ แต่จากการทำน้ำเชื้อแช่แข็งโดยอุปกรณ์แบบง่าย มีรายงานว่าน้ำเชื้อที่ทำการลดอุณหภูมิไปที่ 5° ซ ภายใน 2 ชม. ภายหลังการทำละลายแล้วมีอัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าเท่ากับ 45.6 เปอร์เซนต์ และภายหลังการอุ่นที่อุณหภูมิ 38° ซ เป็นเวลา 1 ชม. มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.0 เปอร์เซนต์ (Dhami ; Sahni and Mohan, 1992) การศึกษาครั้งนี้ทำการแช่แข็งน้ำเชื้อในท้องที่โดยทำการดัดแปลงวิธีการต่าง ๆ โดยไม่ใช้ตู้เย็น และอุปกรณ์ที่ใช้ทำการแช่แข็งเป็นกล่องโฟม ซึ่งให้ผลการเคลื่อนที่ของอสุจิแบบเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอะโครโซมที่มีขอบปกติภายหลังการทำละลายมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 41.6 และ 28.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งอัตราการเคลื่อนที่ดีกว่าน้ำเชื้อแช่แข็งของ Bos indicus ที่รายงานโดย Rhodes and Galina (1985) ส่วนค่าของอัตราอสุจิที่มีขอบอะโครโซมปกติ ยังมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่ามาตรฐาน

ส่วนเปอร์เซ็นต์อสุจิที่เคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าและอะโครโซมที่มีขอบปกติภายหลังการอุ่นที่ 38° ซ เป็นเวลา 5 ชม.นั้น มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24.9 และ 19.1 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับงานทดลองอื่นแล้วจะพบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่มีค่าใกล้เคียงกัน แต่เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีขอบอะโครโซมปกติต่ำกว่า (Landa and Almquist, 1979 : Wiggin and Almquist, 1975) ความแตกต่างที่เกิดขึ้นดังกล่าวอาจเกิดจากเทคนิคการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง ความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ ตลอดจนปัจจัยอื่น ๆ ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อไป

ในการศึกษาเปรียบเทียบอิทธิพลของน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อโคพื้นเมืองแช่แข็ง พบว่าน้ำยาเจือจางสูตรต่าง ๆ ให้ผลไม่แตกต่างกันนั้น

มีผลการศึกษาที่แตกต่างไปจากงานทดลองอื่น โดย Allen and Almquist (1981) รายงานว่า น้ำยาสูตร egg yolk-tris ให้ผลดีกว่าสูตร skimmed milk และ Schenk ; Amann and Allen, (1987) รายงานว่า น้ำยาสูตร egg-yolk citrate ให้ผลดีกว่า egg yolk-tris และ homogenized milk ส่วน Ahmad and Foote (1985) รายงานว่า egg yolk-tris และ whole milk ให้ผลไม่ต่างกัน อย่างไรก็ตามคุณภาพน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาสูตรต่าง ๆ ขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ หลายปัจจัย (Salisbury ; Van Dermark and Lodge, 1978)

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดหลายประการ ซึ่งผู้ที่จะทำการศึกษาต่อไปอาจนำไปพิจารณาปรับปรุงแก้ไขเพื่อความสมบูรณ์ของงานคือ

1. ควรมีการฝึกหัดพ่อพันธุ์ให้มีความคุ้นเคยเป็นวิธีการเก็บน้ำเชื้อโดยใช้ช่องคลอดเทียมเพื่อให้ได้รับน้ำเชื้อที่มีคุณภาพใกล้เคียงกับการหลั่งในสภาพธรรมชาติ

2. การศึกษาน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์แต่ละตัวควรกระทำหลายครั้ง เนื่องจากมีความแปรปรวนในเรื่อง คุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น และคุณภาพภายหลังการแช่แข็งและทำละลาย

3. การทำงานกับโคพื้นเมืองควรมีความระมัดระวังและมีมาตรการในการป้องกันอันตรายที่อาจเกิดขึ้นได้

เอกสารอ้างอิง

สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี. 2541. ข้อมูลการปรับปรุงพันธุ์โคพื้นเมืองระหว่างปี พ.ศ.2535-2540. เอกสารที่ยังไม่ตีพิมพ์เผยแพร่.

Allen, C. H. and Almquist, J. O. 1981. Effect of bulk freezing straws of bovine spermatozoa in a programmed freezer on post-thaw survival. **J. Anim. Sci.** 53 (6) : 1432-1439.

Ammad, K. and Foote, R. H. 1985. Mobility and fertility of frozen bull spermatozoa in tris-yolk and milk extenders containing amikacin sulfals. **J. Dairy Sci.** 68 (8) : 2083-2086.

Coulter, G. H. 1992. Bovine spermatozoa in vitro : a review of storage, fertility estimation and manipulation. **Theriogenology** 38 (1) : 197-207.

Dhami, A. J. and Sahni, K. L. 1995. Deep-freezing of cattle and buffalo semen with or without equilibration and its fertility trials : A comparative study. **J. Anim. Sci.** 65 (1): 59-64.

Dhami, A. J. ; Sahni, K. L. and Mohan, G. 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(3) : 565-574.

Dott, H. M. and Foster, G. C. 1972. A technique for studying the morphology of mammalian spermatozoa which are cosinophilic in a differentcial live/dead stain. **J. Reprod. Fert.** 39(1) : 113-115.

Dumangas, P. B. and Perena, E. B. 1984. Current trends on semen collection, processing and storage. In **The Impact of Artificial Insemination on Livestock Production in Southeast Asia,** pp. 113-125. Procceding of the Seminar. Los Banos, Laguna, Phillippines.

Herman, H. A. ; Mitchell, J. R. and Doak, G. A. 1994. **The Artificial Insemination and Embryo Transfer of Dairy and Beef Cattle.** Illinois : Interstate.

Jones, R. C. and Stewart, D. L. 1979. The effects of cooling to 5 °C and freezing and thawing on the ultrastructure of bull spermatozoa. **J. Reprod. Fert.** 56 (1) : 233-238.

Landa, C. A. and Almquist, J. O. 1979. Effect of freezing large numbers of straws of bovine spermatozoa in an automatic freezer on post-thaw motility and acrosomal retention. **J. Anim. Sci.** 49 (5) : 1190-1194.

Lindsay, D. R. ; Entwistle, K. W. and Winantea, A. 1982. **Reproduction in Domestic Livestock in Indonesia.** Melbourne : Hedges and Bell.

Pickett, B. W. and Berndtson, W. E. 1974. Preservation of bovine spermatozoa by freezing in straws **J. Dairy Sci.** 54 (11) : 1287-1301.

Rhodes, F. ; Galina, C. S. ; Duchateau, A. and Sato, C. 1985. An investigation into the

properties of bovine semen. **Wld. Rev. Anim. Prod.** 21 (2) 15-19.

Salisbury. G. W. ; Van Dermark, N. L. and Lodge, J. R. 1978. **Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle.** 2nd ed. San Francisco : W.H. Freeman and Company.

Watson, P. F. 1979. The preservation of semen in animals. In **Oxford Review of Reproductive Biology**, pp. 283-350. Finned, C.A. ed. London: Clarendon.

Wiggin, H. B. and Almquist, J. O. 1975. Effect of glycerol equilibration time and thawing rate upon acrosomal maintenance and motility of bull spermatozoa frozen in plastic straws. **J. Anim. Sci.** 40 (2): 302-305.

ตารางที่ 1 คุณภาพน้ำเชื้อของโคพื้นเมืองก่อนการแช่แข็งและภายหลังขบวนการแช่แข็งและทำละลาย

พ่อพันธุ์	% อสุจิเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า			% อสุจิที่มีอะโครโซมปกติ		
	ก่อนการแช่แข็ง	หลังการทำละลาย		ก่อนการแช่แข็ง	หลังการทำละลาย	
		0 ชม.	5 ชม.		0 ชม.	5 ชม.
3/31	82.8	35.5^{abcde}	10.13	93.0	16.5	11.1^{bc}
68/33	82.5	30.1^{cde}	18.3	91.8	17.8	13.0^{bc}
82/33	81.8	63.33^{ab}	27.8	91.8	43.6	17.5^{abc}
84/33	80.3	40.3^{abcde}	39.5	89.8	39.0	35.6^{ab}
109/33	67.5	41.4^{abcde}	12.5	91.0	46.3	10.5^{bc}
5/36	70.3	23.1^{de}	12.9	92.8	16.5	15.3^{abc}
14/36	80.3	43.0^{abcde}	20.5	91.8	18.8	12.1^{abc}
24/36	81.5	19.3^{e}	17.5	92.5	20.3	9.3^{c}
35/36	66.5	30.8^{cde}	8.4	89.5	11.8	2.4^{c}
56/36	75.3	55.3^{abc}	53.3	94.8	47.3	40.0^{a}
34/37	75.0	65.3^{a}	42.5	94.0	51.0	22.6^{abc}
35/37	73.8	51.3^{abcd}	36.3	92.0	44.8	39.5^{a}
ค่าเฉลี่ย	76.5	41.6	24.9	92.0	28.2	19.1
ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	+7.8	+16.5	+17.2	+3.0	+17.4	+14.3

ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกัน แสดงความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 2 อิทธิพลของน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง

ลักษณะที่ศึกษา	น้ำยาเจือจาง			
	Egg yolk-tris	Egg yolk-citrate	Skimed milk	IVT
%อสุจิเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า				
0 h	38.3	38.1	37.4	37.2
5 h	29.0	27.7	27.8	27.9
%อสุจิที่มีอะโครโซมปกติ				
0 h	30.1	28.3	32.1	30.1
5 h	23.6	21.9	23.9	22.7

หมายเหตุ ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ