

การศึกษาผลของการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาต่อคุณภาพน้ำเชื้อแพะแช่แข็ง

Effect of Centrifugation for Seminal Plasma on Quality of Frozen-Thawed Goat Semen.

จตุรพร ป้องกัน,¹ ชไมพร วรจักร,² วันประเสริฐ ทুমพะลา³

Jaturaporn Ponggun,¹ Chamaiporn Worachak², Wanprasert Thumprasert³

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งแพะ ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์แพะจำนวน 3 ตัว ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อโดยใช้ electro ejaculation นำน้ำเชื้อที่ได้มารวมกันและแบ่งน้ำเชื้อออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ไม่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมา (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 และ 3 ปั่นแยกเซมินอลพลาสมาที่ความเร็ว 1,500 rpm เป็นเวลา 5 นาทีและ 10 นาที ตามลำดับ เจือจางน้ำเชื้อด้วยสารละลายน้ำเชื้อ egg yolk-tris นำน้ำเชื้อไปทำการลดอุณหภูมิ บรรจุลงหลอดขนาด 0.25 มิลลิลิตร ทำการแช่แข็งและเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว ทำการละลายน้ำเชื้อที่แช่แข็งโดยใช้ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 วินาที ตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อตามดัชนีที่ใช้ในการทดลอง พบว่า กลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 5 นาที และกลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 10 นาที เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ 61.5 ± 2.42 , 64 ± 2.11 , 63.52 ± 4.2 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิต กลุ่มที่ไม่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาเท่ากับ 56.5 ± 7.25 , 76.7 ± 2.91 , 79.4 ± 5.46 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ เท่ากับ 54.6 ± 6.87 , 69.6 ± 3.66 , 69.6 ± 1.9 ตามลำดับ

การศึกษากการปั่นแยกเซมินอลพลาสมา ในน้ำเชื้อแพะหลังการแช่แข็งทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ พบว่ากลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 5 นาที และกลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 10 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 10.5 ± 5.99 , 25 ± 4.08 , 25.5 ± 4.38 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิตรอด เท่ากับ 30.7 ± 4.35 , 52.6 ± 5.25 , 48.7 ± 4.27 เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ เท่ากับ 30.8 ± 4.52 , 48.3 ± 4.88 , 49 ± 4.06

สรุปการศึกษานี้พบว่า การปั่นแยกเซมินอลพลาสมาช่วยให้ อัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ ของน้ำเชื้อแพะแช่แข็งดีขึ้น

คำสำคัญ: น้ำเชื้อแช่แข็ง เซมินอลพลาสมา

^{1,2} นักวิทยาศาสตร์, คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ตลาด อ.เมือง จ.มหาสารคาม 44000

³ นักวิทยาศาสตร์, คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

^{1,2} Scientist, Faculty of Veterinary Science, Mahasarakham University, Moug Distric, Mahasarakham 44000, Thailand.

³ Scientist, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantharawichai Distric, Mahasarakham 44150, Thailand

Abstract

The objective of this study was conducted to evaluate the effect of centrifugation for removing seminal plasma to frozen-thaw goat semen. Goat semen was collected from 3 bulk goats by electro ejaculation Dilute pooled semen with egg yolk-tris extender. Semen samples were cooled, equilibrated, loaded into 0.25 ml straw, and then the samples were frozen and stored in liquid nitrogen. Frozen semen was thawed at 37 °C for 30 s. technique. Semen were pooled and divided into 3 groups: group 1 with seminal plasma (control), group 2 and 3 were removed seminal plasma by centrifugation at 1,500 rpm for 5 min and 10 min, respectively. Dilute pooled semen with egg yolk-tris extender. Semen samples were cooled, equilibrated, loaded into 0.25 ml straw, and then the samples were frozen and stored in liquid nitrogen. Frozen semen was thawed at 37 °C for 30 s. The result showed that before centrifugation at 1,500 rpm for 5 min and 10 min, respectively. Sperm motility was 61.5±2.42 % 64±2.11 % 63.52±4.2 % , respectively. Sperm viability was 56.5±7.25%, 76.7±2.91%, 79.4±5.46%, respectively. Sperm membrane integrity was 54.6±6.87%, 69.6±3.66%, 69.6±19%. respectively.

The result showed that removal of seminal plasma by centrifugation at 1,500 rpm for 5 min and 10 min, respectively. Sperm motility was 10.5±5.99, 25±4.08, 25.5±4.38, respectively. Sperm viability was 56.5±7.25%, 76.7±2.91%, 79.4±5.46%, respectively. Sperm membrane integrity was 54.6±6.87%, 69.6±3.66%, 69.6±19%. respectively. Sperm viability was 30.7±4.35%, 52.6±5.25%, 48.7±4.27%, respectively. Sperm membrane integrity was 30.8±4.52%, 48.3±4.88%, 49±4.06%.

In conclusion, our results found that the centrifugation for removing seminal plasma improve motility, viability, and membrane integrity of frozen-thaw goat semen.

Keyword: frozen-thaw goat semen, seminal plasma

บทนำ

ปัจจุบันแพะเป็นสัตว์ที่ได้รับความสนใจและมีการส่งเสริมให้เกษตรกรเลี้ยงมากยิ่งขึ้น แต่เกษตรกรที่เลี้ยงแพะยังประสบปัญหาในการหาพ่อพันธุ์ที่ดี นอกจากนี้การผสมตามธรรมชาติยังเพิ่มความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายเชื้อโรค อาทิ โรคแท้งติดต่อ (brucellosis) เทคโนโลยีทางการสืบพันธุ์ที่มีบทบาทและลดการกระจายของโรคติดต่อ และเพิ่มประสิทธิภาพทางการปรับปรุงพันธุ์ ได้แก่ การผสมเทียม (artificial insemination; AI) โดยดาร์เก็บน้ำเชื้อให้มีคุณภาพจึงมีความสำคัญยิ่ง แต่การศึกษาในการปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในแพะยังมีน้อย แพะพ่อพันธุ์มีต่อม

bulbourethral gland ที่มีการขับเอ็นไซม์ phospholipase A ปนออกมากับเซมินอลพลาสมา (seminal plasma) เอ็นไซม์ชนิดนี้จะทำปฏิกิริยากับไข่แดงที่เป็นส่วนผสมในสารละลายน้ำเชื้อ ทำให้เกิดสารพิษที่ชื่อ lysilecitin ที่เป็นพิษต่อตัวสุจิแพะ ดังนั้นการศึกษาถึงกระบวนการและวิธีการต่างๆ เพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อแพะจึงนับว่ามีความสำคัญ การศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาผลของการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาต่อคุณภาพน้ำเชื้อแพะแช่แข็งเพื่อเป็นการหาแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำเชื้อแพะแช่แข็งวรรณิษา เต็มวงษ์. (2549).

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลความแรงในการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาต่อคุณภาพน้ำเชื้อแพะแช่แข็ง วางแผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ทำการบันทึกข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อทั่วไป ได้แก่ ปริมาตรน้ำเชื้อ (volume) สี (color) การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (motility) และความเข้มข้นของตัวอสุจิ (sperm concentration) ดัชนีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่ชีวิต ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีรูปร่างปกติ และค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์

ประชากร

แพะพ่อพันธุ์ผสมแองโกล-พื้นเมือง อายุระหว่าง 1-2 ปี น้ำหนักระหว่าง 30-50 กิโลกรัม จำนวน 3 ตัว ที่มีน้ำเชื้อคุณภาพดี มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิหลังจากทำการรีดเก็บอย่างน้อย 60 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ใช้น้ำเชื้อรวม (pool semen) จากพ่อพันธุ์แพะจำนวน 3 ตัว โดยมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์หลังจากทำการรีดเก็บน้ำเชื้อจึงนำมาเข้าการทดลอง ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ การรีดเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อเก็บน้ำเชื้อรวมจากพ่อพันธุ์แพะจำนวน 3 ตัว โดยใช้เครื่องกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อด้วยไฟฟ้า (electro-ejaculator) ก่อนการรีดเก็บน้ำเชื้อจะทำให้ความสะอาดถุงหุ้มลิ่งค์ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ เช็ดทำความสะอาดบริเวณรอบลิ่งค์เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสิ่งสกปรกและฝุ่นละออง จากนั้นทำการรีดเก็บน้ำเชื้อด้วยเครื่องกระตุ้นไฟฟ้าจาก 0 ถึง 20 มิลลิแอมแปร์ เป็นเวลา 5 วินาที และลดลงมาที่ 0 มิลลิแอมแปร์ 5 วินาที แล้วทำซ้ำอีก 5 ครั้ง

จากนั้นเพิ่มความดันไฟฟ้าจาก 0 มิลลิแอมแปร์ ไปที่ 40 มิลลิแอมแปร์ 60 มิลลิแอมแปร์ 80 มิลลิแอมแปร์ และเพิ่มขึ้นจนกว่าเกิดการหลั่งน้ำเชื้อ ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อ 1 ครั้งต่อสัปดาห์

การนับความเข้มข้นของตัวอสุจิ ดูดน้ำเชื้อ 10 uL เจือจางใน 2.5% glutaraldehyde 190 uL (อัตราส่วน 1:200) ผสมให้เข้ากัน จากนั้นดูด้วยไมโครลิตร แต่ละส่วนปลายของไมโครไปเปิดที่บริเวณร่องด้านข้างของชุดตรวจนับเม็ดเลือดแดง (hemocytometer) ที่ปิดด้วยกระจกนับเม็ดเลือด ให้สารละลายเข้าไปอยู่เต็มช่องว่าง จากนั้นนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า นับน้ำเชื้อทั้งหมด น้ำเชื้อรวมจากพ่อพันธุ์แพะจำนวน 3 ตัว เจือจางกับสารละลายน้ำเชื้อพื้นฐาน ในอัตราส่วน 1:19 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ตั้งแผนการทดลอง

ทริทเมนต์ที่ 1 ไม่มีการปั่นแยกเซมินอลพลาสมา (กลุ่มควบคุม)

ทริทเมนต์ที่ 2 ปั่นแยกเซมินอลพลาสมาด้วยแรงเหวี่ยง 1,500 rpm นาน 5 นาที

ทริทเมนต์ที่ 3 ปั่นแยกเซมินอลพลาสมาด้วยแรงเหวี่ยง 1,500 rpm นาน 10 นาที

หลังจากการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาน้ำเชื้อที่ได้มาทำการตรวจและบันทึกข้อมูล อัตราการเคลื่อนที่ (motility) เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (viability) และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (ต้องมีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไม่ต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์จึงนำเข้าสู่กระบวนการแช่แข็งนับความเข้มข้นของน้ำเชื้อ จากนั้นเจือจางกับสารละลายน้ำเชื้อ Triladyl™ CSS one step (Minitube, Germany) รวมด้วยไข่แดง 20 เปอร์เซ็นต์ ปรับให้ความเข้มข้นของตัวอสุจิเท่ากับ 400x10⁶ ตัวต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปลดอุณหภูมิ เพื่อปรับลดอุณหภูมิไปที่ 4 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 0.2 องศาเซลเซียสต่อนาที และนำไปปมต่อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 2 ชั่วโมง (เฉลิมพล มหามาตร, 2552) บรรจุ น้ำเชื้อในหลอดบรรจุน้ำเชื้อขนาด 0.25 มิลลิลิตร (IMV[®], France) อุณหภูมิที่เปิดด้วย polyvinyl alcohol เช็ดหลอดบรรจุน้ำเชื้อให้แห้ง นำน้ำเชื้อที่บรรจุเข้าสู่กระบวนการแช่แข็ง โดยใช้ กล้องโฟม ที่มีระดับไนโตรเจนเหลวสูงประมาณ 5 เซนติเมตร วางหลอดบรรจุน้ำเชื้อบนตะแกรง เหนือระดับไนโตรเจนเหลวประมาณ 5 เซนติเมตร ปิดฝากล้องโฟม (อุณหภูมิประมาณ -120 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 10 นาที (Choe et al., 2006) จากนั้นจุ่มหลอดบรรจุน้ำเชื้อลงไป ในไนโตรเจนเหลว และเก็บรักษาไว้ในถังไนโตรเจนเหลว

การละลายน้ำเชื้อ ภายหลังการเก็บรักษา น้ำเชื้อในถังไนโตรเจนเหลวอย่างน้อย 24 ชั่วโมง นำน้ำเชื้อแช่แข็งที่บรรจุในหลอดขนาด 0.25 มิลลิลิตร จุ่มในน้ำอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วินาที (Purdy, 2006)

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

วัดปริมาณและสีของน้ำเชื้อ และทำการ บันทึกข้อมูลการประเมินตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ โดยหยดน้ำเชื้อ 1 หยดและสารละลายน้ำเชื้อพื้นฐาน 1 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ที่วางบนเครื่องอุ่นสไลด์ ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ด้านบนนำไปตรวจ ประเมิน ใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ประเมิน 5 จุดบนแผ่นสไลด์และหาค่าเฉลี่ยที่ได้ โดยให้คะแนนเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ เป็น 0-100 เปอร์เซ็นต์ (กรมปศุสัตว์, 2555)

การประเมินตัวอสุจิที่มีชีวิต โดยนำน้ำเชื้อ 10 ไมโครลิตรเจือจางกับสี eosin-nigrosin 20 ไมโครลิตร บนแผ่นสไลด์ผสมให้เข้ากันและบ่ม 30 วินาที ก่อนทำการสเมียร์ จากนั้นตรวจนับตัวอสุจิ จำนวน 200 ตัว ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย สูง (1,000 เท่า) โดยตัวอสุจิที่มีชีวิตไม่ติดสี ตัวที่ ตายส่วนหัว (ทั้งหมดหรือครึ่งหนึ่ง) ติดสีแดงหรือ สีส้ม ประเมินตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้ม เซลล์ ด้วยสารที่มีความดันออสโมติกต่ำ (hypo-

osmotic swelling test; HOS test) นำน้ำเชื้อ 25 ไมโครลิตร ใส่ในสารละลายที่มีความดันออสโมติกประมาณ 100 mOsm ปริมาตร 200 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที จากนั้นเติม 2% glutaraldehyde 300 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา หยดน้ำเชื้อ 1 หยด บนสไลด์ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ตรวจภายใต้ กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า นับ จำนวนตัวอสุจิ 200 ตัว โดยตัวอสุจิที่มีหางงอ คือ ตัวอสุจิที่มีเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิสมบูรณ์และตัวอสุจิที่มี หางตรง คือตัวอสุจิที่มีเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิเสียหาย

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูล ดัชนีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัว อสุจิที่มีชีวิต และค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความ สมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ ในแต่ละทรีทเมนต์มาทำ การวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลอง แบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบความต่างของ ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan New Multiple Range Test

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการปั่นแยกเซมินอลพลาสมา ในน้ำเชื้อแพะก่อนทำการแช่แข็ง เมื่อทำการตรวจ คุณภาพน้ำเชื้อตามดัชนีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัว อสุจิที่มีชีวิต และค่า เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความ สมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (ตารางที่ 1) พบว่า เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ในกลุ่มที่ไม่ทำการปั่นแยก เซมินอลพลาสมา เท่ากับ 61.5 ± 2.42 ต่ำกว่ากลุ่ม ที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 5 นาที (64 ± 2.11) ($p < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ปั่นที่ ความเร็ว 1,500 rpm 10 นาที (63.52 ± 2.42) ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอล พลาสมาไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$)

เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิต กลุ่มที่ไม่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาเท่ากับ 56.5 ± 7.25 ต่ำกว่ากลุ่มที่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาทั้ง 2 กลุ่ม ($p < 0.05$) โดยกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมาที่ความเร็ว 1,500 rpm 5 นาที มีค่าเท่ากับ 76.7 ± 2.91 และกลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 10 นาที มีค่าเท่ากับ 79.4 ± 5.46 แต่ไม่พบความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมา ($p > 0.05$)

เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ กลุ่มที่ไม่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาเท่ากับ 54.6 ± 6.87 ต่ำกว่ากลุ่มที่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาทั้ง 2 กลุ่ม ($p < 0.05$) โดยกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมาที่ความเร็ว 1,500 rpm 5 นาทีมีค่าเท่ากับ 69.6 ± 3.66 และกลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 10 นาทีมีค่าเท่ากับ 79.4 ± 5.46 แต่ไม่พบความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมา ($p > 0.05$)

ผลการศึกษการปั่นแยกเซมินอลพลาสมา ในน้ำเชื้อแพะหลังการแช่แข็ง เมื่อทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อตามดัชนีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิต และค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (ตารางที่ 2) พบว่า เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ในกลุ่มที่ไม่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมา เท่ากับ 10.5 ± 5.99 ต่ำกว่ากลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 5 นาที (25 ± 4.08) และกลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 10 นาที (25.5 ± 4.38) ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมาไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิตรอด กลุ่มที่ไม่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมา

เท่ากับ 30.7 ± 4.35 ต่ำกว่ากลุ่มที่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาทั้ง 2 กลุ่ม ($p < 0.05$) โดยกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมาที่ความเร็ว 1,500 rpm 5 นาที มีค่าเท่ากับ 52.6 ± 5.25 และกลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 10 นาที มีค่าเท่ากับ 48.7 ± 4.27 แต่ไม่พบความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมา ($p > 0.05$) เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ กลุ่มที่ไม่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาเท่ากับ 30.8 ± 4.52 ต่ำกว่ากลุ่มที่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาทั้ง 2 กลุ่ม ($p < 0.05$) โดยกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมาที่ความเร็ว 1,500 rpm 5 นาทีมีค่าเท่ากับ 48.3 ± 4.88 และกลุ่มที่ปั่นที่ความเร็ว 1,500 rpm 10 นาทีมีค่าเท่ากับ 49 ± 4.06 แต่ไม่พบความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ปั่นแยกเซมินอลพลาสมา ($p > 0.05$)

Table 1 The results showed that the removal seminal plasma by centrifugation before freezing and frozen-thaw goat semen

Treatment	n	Motility %	Viability %	membrane integrity
control	3	61.5 ± 2.4 ² ^a	56.5 ± 7.25 ^a	54.6 ± 6.87 ^a
centrifugation at 1,500 rpm 5 min	3	64 ± 2.11 ^b	76.7 ± 2.91 ^b	69.6 ± 3.66 ^b
Centrifugation at 1,500 rpm 10 min	3	63.52 ± 4.2 ^{a,b}	79.4 ± 5.46 ^b	69.9 ± 6.19 ^b

^{a,b} Different superscripts within columns indicate significant differences ($p < 0.05$).

Table 2 The results showed that the removal seminal plasma by centrifugation after freezing and frozen-thaw goat semen

Treatment	n	Motility %	Viability %	membrane integrity
control	3	10.5±5.99 ^a	30.7±4.35 ^a	30.8±4.52 ^a
centrifugation at 1,500 rpm 5 min	3	25±4.08 ^b	52.6±5.25 ^b	48.3±4.88 ^b
centrifugation at 1,500 rpm 10 min	3	25.5±4.38 ^b	48.7±4.27 ^b	49±4.06 ^b

^{a,b} Different superscripts within columns indicate significant differences ($p < 0.05$)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาก่อนทำการแช่แข็งน้ำเชื้อแพะ จากการใช้ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ ค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีชีวิต และค่าเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นพารามิเตอร์ในการศึกษาคุณภาพของน้ำเชื้อแพะ พบว่า การปั่นแยกเซมินอลพลาสมาในน้ำเชื้อแพะส่งผลต่อคุณภาพของน้ำเชื้อแพะดีกว่ากลุ่มที่ไม่ทำการปั่นแยกเซมินอลพลาสมา Salvador et al. (2007) รายงานว่าการปั่นแยกเซมินอลพลาสมาในน้ำเชื้อแพะแบบแช่เย็น โดยใช้ความเร็ว 900xg 10 นาที ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ

เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีอะโครโซมปกติ และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ปั่นแยกเซมินอลพลาสมา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้ที่ให้ความร่วมมือในการทำวิจัยเรื่องนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ดังนี้ กองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการมหาสารคามฟาร์มแพะเขตจังหวัดมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์โคนมในการศึกษาทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. กรมปศุสัตว์. การผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแพะ. ได้จาก <http://www.dld.go.th/biotech/th>. July 27 2012.
2. วรณนิษา เต็มวงษ์. (2549). ผลกระทบของฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อและเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิกระบือปลัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
3. สุธีรัตน์ เอี่ยมละมัย. การสืบพันธุ์ในโค. พิมพ์ครั้งที่ 1 มหาวิทยาลัยขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2547
4. Purdy, P.H. A review on goat sperm cryopreservation. Small Rumin 2006; 215–225